

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
4. Oktober 2001 (04.10.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/72229 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61B 10/00, 5/05, 1/303, 17/425, A61D 17/00
- (74) Anwalt: NOBBE, Matthias; Viering, Jentschura & Partner, Centroatlee 263, 46047 Oberhausen (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/01061
- (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (22) Internationales Anmeldedatum:
20. März 2001 (20.03.2001)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (30) Angaben zur Priorität:
100 14 350.4 24. März 2000 (24.03.2000) DE
- (71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V. [DE/DE]; Hofgartenstrasse 8, 80539 München (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): DENKER, Hans-Werner [DE/DE]; Universitätsklinikum Essen, Hufelandstrasse 55, 45122 Essen (DE). THIE, Michael [DE/DE]; Universitätsklinikum Essen, Hufelandstrasse 55, 45122 Essen (DE). TINEL, Hanna [DE/DE]; Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie, Otto-Hahn-Strasse 11, 44227 Dortmund (DE).
- Veröffentlicht:**
— mit internationalem Recherchenbericht
— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR DIAGNOSTICALLY DETECTING THE RECEPTIVITY OF THE UTERUS EPITHELIUM

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR DIAGNOSTISCHEN BESTIMMUNG DER REZEPTIVITÄT DES UTERUSEPITHELIS

(57) Abstract: The present invention relates to a method for diagnostically detecting the receptivity of the uterus epithelium, especially the moment when the implantation window is situated within the menstrual cycle. The invention also relates to a device for carrying out said method.

(57) Zusammenfassung: Das Verfahren betrifft die diagnostische Bestimmung der Rezeptivität des Uterusepithels, insbesondere des Zeitpunktes des Implantationsfensters innerhalb des Menstruationszyklus, und eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens.



WO 01/72229 A1

Verfahren und Vorrichtung zur diagnostischen Bestimmung der
Rezeptivität des Uterusepithels

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur
5 diagnostischen Bestimmung der Rezeptivität des
Uterusepithels, insbesondere des Zeitpunktes des
Implantationsfensters innerhalb des Menstruationszyklus, und
eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens.

10 Bei der Behandlung der Kinderlosigkeit beim Menschen gewinnt
in den letzten Jahren die künstlichen Befruchtung,
insbesondere die sogenannte In-vitro-Fertilisation und die
intracytoplasmatische Spermieninjektion eine zunehmende
Bedeutung. Bei diesen Behandlungsmethoden werden Eizellen
15 außerhalb des Uterus befruchtet und dann in einem
Embryostadium in die Gebärmutter transferiert.

Wie schon lange bekannt, gilt für die Embryo-Implantation,
dass die Anheftung von Trophoblastenzellen an
20 Uterusepithelzellen in der Einleitungsphase nur dann möglich
ist, wenn alle Bestandteile des Endometriums - also auch das
Uterusepithel - zuvor einen bestimmten physiologischen
Zustand erreicht haben. Die Rezeptivität bestimmt von der
uterinen Seite her das Implantationsfenster innerhalb des
25 Menstruationszyklus und wird durch die Östrogen- und
Progesteronsekretion des Ovars reguliert. Die rezep tive Phase
des Menschen beginnt etwa 4 bis 5 Tage nach der
Fertilisierung und bleibt etwa 4 Tage bis 8 Tage bestehen.

30 Die genauen Abläufe bei den ersten Anheftungsvorgängen zu
Beginn der Implantation beim Menschen sind noch nicht geklärt
worden. Diese Phase bereitet bei allen Bemühungen zur
Behandlung einer Sterilität immer noch die größten

Schwierigkeiten, da die Abläufe und die Regulation dieser Vorgänge weitgehend unbekannt sind.

Die Schwangerschaftserfolgsraten der In-vitro-Fertilisations- und Embryotransfer-Therapie (IVF/ET-Therapie) liegen weltweit
5 nur zwischen 10% und 20%, bezogen auf die durchgeführten Embryotransfers. Eine gezielte medizinische Therapie der Implantationsstörung ist bis heute nicht möglich. Lediglich eine endokrinologische Beeinflussung z.B. mittels einer
10 Steroidsubstitution (auch indirekt unter Verwendung von beispielsweise hCG) steht zur Unterstützung der Periimplantationsphase zur Verfügung.

Die Implantation des Embryos ist von zentraler Bedeutung für
15 das Zustandekommen einer Schwangerschaft und wird durch eine direkte Interaktion des Trophoblasten mit dem Lumenepithel des Uterus eingeleitet. Über die zellbiologischen Grundprozesse der menschlichen Embryo-Implantation liegen wegen der relativen Unzugänglichkeit des Vorgangs nur wenige
20 gesicherte Informationen vor. Erkenntnisse zu diesen zellbiologischen Grundprozessen wären jedoch nicht nur für das Verständnis der für die Embryoimplantation so kritischen Zell-Zell-Adhäsion zwischen der Blastozyste und der endometrialen Mucosa wünschenswert, sondern auch für eine
25 effizientere Hormonbehandlung von Fertilitätsstörungen endometrialer Ursachen von hohem Interesse.

Seitens der Erfinder wurden aufgrund von experimentellen Untersuchungen, die sie durchgeführt haben, Überlegungen
30 angestellt und gedankliche Konzepte entwickelt, die es gestatten, die zu vermutenden zellbiologischen Grundlagen gezielt zu analysieren.

Die Erfinder fanden heraus, dass die Ausbildung eines strukturell und funktionell spezialisierten Zell-Zell-Kontaktes zwischen Epithelzellen des Trophoblasten der implantationsbereiten Blastozyste und Epithelzellen der
5 Oberfläche des rezeptiven Endometriums von besonderer Bedeutung für die Embryo-Implantation ist.

Dabei erkannten die Erfinder, dass die physikochemischen und biochemischen Prozesse um Erkennung, Annäherung und Bindung
10 zwischen der apikalen (freien) Plasmamembrandomäne der Zellen von Trophoblast und Uterusepithel nicht als isoliertes Membranphänomen gesehen werden dürfen, sondern als ein Komplex aus vielen Reaktionsschritten, die im Inneren dieser Zellen gesteuert werden.

15

Im Rahmen der Untersuchungen fanden die Erfinder heraus, dass bei Zellkontakt zwischen Trophoblast und Uterusepithel eine Veränderung der intrazellulären Calcium-Ionen-Konzentration im Kontaktbereich und in dessen Umgebung festzustellen ist.
20 Bei Stimulation der Zellen des Uterusepithels war eine vorübergehende Erhöhung des intrazellulären freien Calciums im Uterusepithel festzustellen.

Dabei wurde festgestellt, dass eine Stimulation der Epithel-
25 Zellen jedoch nur bei den Zellen zu einer intrazellulären Calcium-Erhöhung führte, die gegenüber dem Trophoblasten eine erhöhte Adhäsivität aufweisen, sich somit in einem Zustand einer erhöhten Rezeptivität befinden.

30 Diese Calcium-Erhöhung hat in ihrer Kinetik und räumlichen Ausbreitung Charakteristika, die bei der Beurteilung des Rezeptivitätszustandes mit herangezogen werden können.

Auf diesen Erkenntnissen basierend haben die Erfinder ein Verfahren zur Bestimmung einer erhöhten Rezeptivität des Uterusepithels entwickelt, das auf dem Nachweis einer Veränderung der intrazellulären Ionen-Konzentration und/oder Ionen-Verteilung, insbesondere der Calcium-Ionen und, gemäß 5 eines Teilaspektes der vorliegenden Erfindung, auf der damit einhergehenden Veränderung des transepithelialen elektrischen Widerstandes beruht.

10 Die vorliegende Erfindung ist daher gerichtet auf ein Verfahren zur diagnostischen Bestimmung der Rezeptivität des Uterusepithels, das die folgenden Schritte umfasst:

- 15 a) Bestimmen des Ausgangswertes der Ionen-Konzentration des Uterus-Epithels bzw. dessen transepithelialen Widerstandes und Speichern der erhaltenen Ergebnisse;
- b) Stimulieren der Uterus-Epithels auf physikalischem und/oder chemischem Wege; und
- 20 c) Bestimmen des infolge der Stimulation geänderten Wertes der Ionen -Konzentration des Uterus-Epithels bzw. dessen transepithelialen Widerstandes und Auswerten des erhaltenen Ergebnisses unter Berücksichtigung des in Schritt a) erhaltenen Wertes.

Unter Stimulation auf physikalischem oder chemischen Wege ist 25 die Reizung des Epithels mittels einer elektrischen Spannung, vorzugsweise über eine an der Sonde wie weiter unten beispielhaft erläuterte befindliche Elektrode, mittels der auch die Widerstandsmessung durchgeführt werden kann, die mechanische Reizung durch Ausübung eines Druckes oder durch 30 Aufbringung einer chemischen Substanz zu verstehen.

Bevorzugt erfolgt in dem Verfahren das Bestimmen von durch die Stimulation verursachten Änderungen der Ionen-

Konzentration durch fluoreszenzoptische Messung, durch
Messung mittels eines Ionen-sensitiven Bio- und/oder
Ionensensors, oder von Änderungen des transepithelialen
elektrischen Widerstands, wobei in Schritt c) besonders
5 bevorzugt das Bestimmen dieser Parameter den kinetischen
Verlauf der Änderung des gemessenen Parameters
berücksichtigt.

Dabei umfasst das Bestimmen der Ionen-Konzentration weiterhin
10 bevorzugt den kinetischen Verlauf der gemessenen Parameter
innerhalb und/oder außerhalb des Bereichs der direkt
stimulierten Zellen.

Dem Fachmann ist klar, dass in der Regel nicht die Kenntnis
15 der Absolutwerte der Ionen-Konzentration für die Beurteilung
des Rezeptivitätszustandes der Uterus-Schleimhaut bzw. zur
Feinabstimmung einer Hormonbehandlung erforderlich sein
werden. Vielmehr ist regelmäßig für die obigen Zwecke bereits
ausreichend, daß infolge einer Stimulation der Uterus-
20 Schleimhaut eine Änderung der intrazellulären Calcium-Ionen-
Konzentration, der Ionenströme über die Zellmembran bzw. des
transepithelialen Widerstandes resultieren. Eine Veränderung
des transepithelialen elektrischen Widerstandes dient bei
einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahren als
25 Indikator für eine abgelaufene Änderung der intrazellulären
Ionen-Konzentration, insbesondere der Calcium-Ionen-
Konzentration, ohne daß hierzu z.B. die Kenntnis der
absoluten Ionen- bzw. Calcium-Ionen-Konzentrationen vor und
nach der Stimulation notwendig wäre.

30

Calcium-Ionen bewirken als sekundäre Boten eine Vielzahl von
intrazellulären Folgereaktionen, die über größtenteils
bislang unbekannte Mechanismen auch eine Veränderung der über

verschiedene Ionenkanäle regulierten transmembranösen Ionenströme und damit der zu messenden Leitfähigkeit bzw. des transepithelialen Widerstandes hervorrufen. Folglich erlaubt die Kenntnis über eine Veränderung der transepithelialen Leitfähigkeit einen Rückschluss auf den Rezeptivitätszustand der Uterus-Schleimhaut. Die infolge der Stimulation des Uterus-Epithels zu verzeichnende Erhöhung der intrazellulären Calcium-Ionen-Konzentration ist eine der Ursachen für die Veränderung des transepithelialen Widerstandes. Es kann somit auch über das Monitoring dieses Parameters - vor und nach der Stimulation - eine Aussage zur momentanen Rezeptivität des Uterus-Epithels getroffen werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens erfolgt eine Messung des transepithelialen elektrischen Widerstandes, wobei die Ermittlung des Grundwertes des transepithelialen Widerstandes, Stimulierung, Ermittlung des geänderten Wertes nacheinander erfolgen. Die durch die Stimulation des Uterusepithels hervorgerufene Erhöhung der intrazellulären Ionen-Konzentration bewirkt über gekoppelte Folgereaktionen eine Änderung der Membranleitfähigkeit und hat somit eine Änderung des transepithelialen Widerstandes zur Folge. Da die durch die Stimulation bewirkten Ionenverschiebungen auch mit den Änderungen des gemessenen elektrischen Widerstandes korrelieren, kann die Bestimmung des elektrischen Widerstandes an der Uterus-Schleimhaut als Maß für die Reaktionsfähigkeit verwendet werden.

Desweiteren schlagen die Erfinder eine weitere Ausführungsform des Verfahrens der vorliegenden Erfindung vor, welche auf ein Verfahren zur diagnostischen Bestimmung

der Rezeptivität des Uterusepithels gerichtet ist, das die folgenden Schritte umfasst:

a) Bestimmen des Ausgangswertes der Calcium-Ionen-Konzentration des Uterus-Epithels und Speicherung des erhaltenen Wertes;

b) Stimulieren der Uterus-Epithels auf physikalischem und/oder chemischem Wege; und

c) erneutes Bestimmen der Calcium-Ionen-Konzentration des Uterus-Epithels nach der Stimulation und Auswerten des erhaltenen Ergebnisses unter Berücksichtigung des in Schritt a) erhaltenen Wertes.

In einem anderen, auf der letztgenannten, bevorzugt fluoreszenzoptischen Messung der Calcium-Ionen-Konzentration beruhenden Verfahren umfasst dieses die Schritte a) bis f):

a) Applizieren eines Calcium-Indikators, bei dem es sich um einen fluoreszierenden/lumineszierenden Indikator handeln kann, auf das Uterusepithel;

b) Bestrahlen des Uterusepithels mit Licht geeigneter Wellenlänge, wenn fluoreszierende Indikatoren verwendet werden, und Messen der von dem Calcium-Indikator emittierten Strahlung (Fluoreszenz-/Lumineszenzstrahlung);

c) Auswerten der erhaltenen Messwerte in einer Auswertungs-einheit;

d) Stimulieren des Uterusepithels, ggf. auf physikalischem und/ oder chemischem Wege;

e) erneutes Bestrahlen des Uterusepithels mit Licht geeigneter Wellenlänge, wenn fluoreszierende Indikatoren verwendet werden, und Messen der von dem Calcium-Indikator emittierten Strahlung (Fluoreszenz-/Lumineszenzstrahlung); und

f) Auswerten der erhaltenen Messwerte in einer Auswertungs-einheit.

In einem weiteren Verfahren wird im Unterschied zur fluoreszenzoptischen Bestimmung der Calcium-Ionen-Konzentration diese mittels eines auf Calcium-Ionen-sensitiven Bio- oder Ionensensors bestimmt. Die technischen Grundlagen dieser Nachweisverfahren sind im Stand der Technik wohlbekannt, so dass es dem Fachmann möglich ist, geeignete Bioaffinitäts-, biomimetrische oder Calcium-Ionen-Sensoren für das erfindungsgemäße Verfahren auszuwählen.

10

Mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens ist es möglich, den Zeitpunkt einer erhöhten Rezeptivität zu bestimmen und somit die Chancen für die erfolgreiche Kopplung zwischen Trophoblast und Uterusepithel zu erhöhen und letztendlich für die erfolgreiche Implantation des Embryos zu erhöhen. Des weiteren kann dieses Verfahren vorteilhaft zur Feinabstimmung der Hormonbehandlung von Fertilitätsstörungen endometrialer Ursachen eingesetzt werden.

20

Als vorteilhafte Ausführung des erfindungsgemäßen Verfahrens schlagen die Erfinder vor, das erfindungsgemäße Verfahren in Analogie zur Hysteroskopie durchzuführen und eine Sonde oder ein Endoskop in entsprechender Weise in die Uterushöhle einzuführen. Wahlweise kann die Uterushöhle mit einer physiologischen Kochsalzlösung, die Calcium-Ionen enthält, entfaltet werden, um die Oberfläche vorbereitend zu spülen oder zu inspizieren.

30

Zur Durchführung einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens haben die Erfinder eine Diagnosevorrichtung vorgeschlagen, die als wesentliche Komponenten eine besonders ausgestaltete Sonde und eine daran angeschlossene Auswertungseinheit umfasst.

In einer Ausführungsform umfasst die Diagnose-Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens in einer Variante eine Sonde, die in einer einfachsten Version aus einem Sondenstab oder -rohr oder einem flexiblen Schlauch bestehen kann, gegebenenfalls mit einem optischen System zur Beobachtung der Uterusschleimhaut ausgerüstet, und eine mit der Sonde funktionell verbundene Auswertungseinheit zur Auswertung der erhaltenen Messwerte, wobei die Sonde weiterhin umfasst:

- a) Mittel zum Stimulieren der Uterus-Epithels auf physikalischem und/oder chemischem Wege
- b) einen vorzugsweise am uterusseitigen Ende des Sonde befindlichen Messkopf mit Mitteln zur Bestimmung der epithelialen Ionen-Konzentration bzw des transepithelialen Widerstandes.

In einer bevorzugten Ausführungsform weist die Diagnose-Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens ein optisches System auf, das zur Beobachtung der Uterusschleimhaut in den Sondenstab oder -schlauch zur Einführung in den Uterus integriert ist.

In einer weiter bevorzugten Ausführungsform weist der Messkopf mindestens eine Elektrode zum Messen des transepithelialen elektrischen Widerstandes auf. Zusätzlich sind bevorzugt Mittel zum Abdichten der mindestens einen Elektrode gegenüber der Umgebung vorhanden.

In einer weiter bevorzugten Ausführungsform weist die Diagnose-Vorrichtung eine weitere Elektrode auf, die als indifferente Elektrode außerhalb oder innerhalb des Uterus angebracht wird.

Bevorzugte Diagnose-Vorrichtungen weisen einen Messkopf zur Bestimmung der Ionen-Konzentration auf, der Mittel zur fluoreszenzoptischen Messung und/oder einen Ionen-sensitiven Bio- und/oder Ionensensor umfasst.

Über die bevorzugt mehrkanalige Sonde zur Einführung in den Uterus können für das fluoreszenzoptische Verfahren ein Calcium-Indikator und gegebenenfalls weitere Test-Substanzen auf das Uterus-Epithel appliziert werden, wobei dieses beispielsweise über einen Kanal im Sondenschlauch ermöglicht wird. Dazu kann mit der Sonde auch ein Vorratsbehälter für die den Calcium-Indikator enthaltende Lösung verbunden oder daran vorgesehen sein, aus dem über eine Förderleitung diese Lösung mittels einer Fördereinrichtung, z.B. einer Pumpe, zu der Applikationsöffnung in der Nähe des Messkopfes gefördert wird. Dazu ist zur Begrenzung der applizierten Menge an Lösung bevorzugt eine Dosiervorrichtung vorgesehen, die nach Art einer Spritze ausgebildet ist.

20

Eine bevorzugte Diagnose-Vorrichtung zur Bestimmung der epithelialen Calcium-Ionen-Konzentration weist einen Messkopf auf, welcher zur Ausstrahlung von Licht geeigneter Wellenlänge und zur Messung von emittiertem Licht ausgebildet ist.

25

Für den Fall, dass die Einbringung eines exogenen Fluoreszenz-Indikators nicht erforderlich ist, da eventuell auch endogen vorhandene fluoreszierende Verbindungen die Änderung der Calcium-Konzentration anzeigen können, sind die Applikation eines "exogen" Calcium-Indikators und somit die vorgenannten Mittel zur Applikation desselben nicht erforderlich.

30

Die Sonde ist zur fluoreszenzoptischen Messung mit einem Messkopf, durch den Licht geeigneter Wellenlänge zur Fluoreszenz-Anregung ausgestrahlt und emittiertes Licht über
5 ein in den Messkopf integriertes Photoelement aufgenommen wird, versehen.

Weiterhin können in der Sonde Mittel zum Einbringen zusätzlicher Vorrichtungen, die Manipulationen auch mit dem
10 Messkopf im Uteruslumen erlauben und kontrollieren, vorgesehen sein. Solche Vorrichtungen können beispielsweise Bauteile, die einen mechanischen Vorschub des Messkopfes selbst ermöglichen oder aber ein Mikromanipulator-gesteuerter mechanischer Stimulator sind, umfassen.

15

Darüber hinaus kann der Sondenstab oder -schlauch auch einen optischen Kanal, wie eine lichtleitende Faser, und der Meßkopf eine entsprechende Optik zur Inspektion der Schleimhautoberfläche enthalten.

20

Anstelle eines Messkopfes mit darin integrierter Lichtquelle und Photoelement können eine Lichtquelle, die ein Licht geeigneter Wellenlänge zur Anregung des Fluoreszenz-Indikators ausstrahlt und die mit der Sonde über einen
25 Lichtleiter optisch-leitend verbunden ist, so dass die emittierte Strahlung auf das Uterus-Epithel geleitet werden kann, und ein Photoelement zur Detektion der Fluoreszenz am bei Untersuchung außerhalb des Körpers vorhandenen Ende des Sondenschlauches vorgesehen oder damit mit verbunden sein.

30

Die gemessenen Werte können in der angeschlossenen Auswertungseinheit ausgewertet werden. In der Auswertungseinheit, beispielsweise einem Computersystem mit

einer darauf eingespielten Software, wird (a) die Aufnahme und Speicherung der detektierten Signale ermöglicht, und kann (b) die Auswertung dieser Signale durchgeführt werden.

5 Die Auswertung der Messwerte erfolgt über die Signalbewertung, die auf den Parametern "Größe" und "Ausbreitung" des Calcium-Signals bzw. der Änderung des transepithelialen Widerstandes basiert. Die Größe des Signals ergibt sich aus der Differenz zwischen dem Basiswert vor
10 Stimulation und dem Wert nach Stimulation. Zur Erhöhung der Messgenauigkeit ist es vorteilhaft, mittels mindestens einer weiteren Lichteintritts-/Austrittsöffnung am Messkopf bzw. mittels zusätzlicher Elektroden die räumliche Ausbreitung des Signals zu detektieren und bei der Auswertung zu
15 berücksichtigen.

Sofern erforderlich, kann der Calcium-Indikator vorzugsweise in membrangängiger Form als Esterverbindung, die die Zellmembran spontan penetriert, intrazellulär von Esterasen
20 gespalten wird und dann in der gespaltenen Form die Zelle nicht mehr verlassen kann, appliziert werden. Bei Verwendung anderer Indikatoren kann der Transport in die Zellen auch über Elektroporation, Kopplung an Liposomen oder an Liganden für Zelloberflächen-ständige Rezeptoren mit nachfolgender
25 Endozytose oder durch spontane Aufnahme durch die Zellen erfolgen.

Zur Aufnahme des Basiswertes erfolgt bei Anwendung des Fluoreszenzprinzips die Anregung des intrazellulären
30 Indikators mit Licht entsprechender Wellenlänge, was bei der alternativ verwendbaren Lumineszenz-Messung nicht erforderlich ist. In-vivo kann die Messung mittels Integralmessung der emittierten Strahlung, z.B.

Fluoreszenzlicht, in einem flächenmäßig definierten Fenster erfolgen.

Nach der chemischen oder physikalischen Stimulation der Uterus-Epithelzellen wird die Messung der emittierten Strahlung wiederholt, die Differenz der Signale aus der Messung vor und nach Stimulation und der zeitabhängigen Kinetik registriert und in der Auswertungseinheit ausgewertet.

10

Entsprechendes gilt für die Durchführung des Verfahrens zur Messung des transepithelialen Widerstandes, mit dem Unterschied, daß in diesem Fall über Elektroden anstelle des optischen Systems elektrische Parameter wie Leitfähigkeit oder elektrischer Widerstand ermittelt werden.

15

Die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendbare Sonde sollte zwei unabhängige solcher Messfenster bzw. Elektroden umfassen, die sich in einem definierten Abstand voneinander befinden, um auch die Ausbreitung des Signals in der Fläche miterfassen zu können. Ferner umfasst der Kopf des Sondenschlauches die Öffnungen (Zu- und Abfluss) von Kanälen für die Spülflüssigkeit und eventuell ein normales optisches System eines Endoskops (= Hysteroskops) zur Betrachtung der Schleimhautoberfläche.

20

25

Bei der in-vivo-Anwendung des Verfahrens wird der Sondenschlauch in die Uterushöhle eingeführt und der Messkopf an die Schleimhautoberfläche angelegt. Falls erforderlich, wird eine Spülung mit einer Calcium-haltigen physiologischen Lösung zum Freispülen durchgeführt. Danach erfolgt bei Anwendung des fluoreszenzoptischen Verfahrens das Einbringen der Calcium-Indikatorlösung, falls erforderlich, durch den

30

Spülkanal, wobei die Aufnahme der Calcium-Indikatorlösung durch die Epithelzellen analog wie oben beschrieben erfolgt.

Die Messvorgänge zur Ermittlung des Ausgangswertes und zur
5 Bestimmung nach Stimulation erfolgen wie oben beschrieben.
Die Stimulation des Uterusepithels zwischen den beiden
Messvorgängen kann durch Berühren mit dem gesamten
Schlauchkopf oder mittels einer Vorrichtung, die durch einen
gesonderten Kanal im Sondenschlauch geführt wird, erfolgen.

10

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform einer Diagnose-
Vorrichtung, bei der die epitheliale Ionen-Konzentration
mittels bio- und/oder ionensensorischer Messung erfolgt, ist
ein Messkopf enthalten, der mindestens einen Ionen-
15 sensitiven, bevorzugt einen Calcium-Ionen-sensitiven Bio-
und/oder -Ionensensor umfasst.

Alle vorgeschlagenen Diagnose-Vorrichtungen weisen zudem
bevorzugt Mittel zum Einbringen zusätzlicher Vorrichtungen,
20 die Manipulationen im Uteruslumen erlauben und kontrollieren,
auf.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur diagnostischen Bestimmung der Rezeptivität des Uterusepithels, das die folgenden Schritte umfasst:
 - 5 a) Bestimmen des Ausgangswertes der Ionen-Konzentration des Uterus-Epithels bzw. dessen transepithelialen Widerstandes und Speichern der erhaltenen Ergebnisse;
 - b) Stimulieren der Uterus-Epithels auf physikalischem und/oder chemischem Wege; und
 - 10 c) Bestimmen des infolge der Stimulation geänderten Wertes der Ionen-Konzentration des Uterus-Epithels bzw. dessen transepithelialen Widerstandes und Auswerten des erhaltenen Ergebnisses unter Berücksichtigung des in Schritt a) erhaltenen Wertes.
- 15 2. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem das Bestimmen der Ionen-Konzentration durch fluoreszenzoptische Messung oder durch Messung mittels eines Ionen-sensitiven Bio- und/oder Ionensensors erfolgt.
- 20 3. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem der transepitheliale elektrische Widerstand vor und nach der Stimulation gemessen wird, die bevorzugt durch einen elektrischen Reiz des Epithels hervorgerufen wird, und die erhaltenen Messwerte miteinander verglichen werden.
- 25 4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem in Schritt c) das Bestimmen der Parameter den kinetischen Verlauf der Konzentrationsänderung bzw. des transepithelialen Widerstandes berücksichtigt.
- 30 5. Verfahren nach Anspruch 4, bei dem in Schritt c) das Bestimmen der Parameter den kinetischen Verlauf der

Konzentrationsänderung bzw. des transepithelialen Widerstandes innerhalb und/oder außerhalb der direkt stimulierten Zellen umfasst.

- 5 6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Bestimmung der Ionen-Konzentration zur Bestimmung der Calcium-Ionen-Konzentration durch fluoreszenzoptische Messung, durch Messen des transepithelialen elektrischen Widerstands oder durch Messung mittels eines Ionen-
- 10 sensitiven Bio- und/oder Ionensensors erfolgt.
7. Diagnose-Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 6, die eine Sonde, gegebenenfalls mit einem optischen System zur Beobachtung
- 15 der Uterusschleimhaut ausgerüstet, und eine mit der Sonde funktionell verbundene Auswertungseinheit zur Auswertung der erhaltenen Messwerte umfasst, wobei die Sonde weiterhin umfasst:
- a) Mittel zum Stimulieren der Uterus-Epithels auf
- 20 physikalischem und/oder chemischem Wege
- b) einen vorzugsweise am uterusseitigen Ende des Sonde befindlichen Messkopf mit Mitteln zur Bestimmung der epithelialen Ionen-Konzentration bzw des transepithelialen Widerstandes.
- 25
8. Diagnose-Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach Anspruch 7, wobei ein optisches System zur Beobachtung der Uterusschleimhaut in die Sonde zur Einführung in den Uterus integriert ist.
- 30
9. Diagnose-Vorrichtung nach Anspruch 7 oder 8, bei der der Messkopf zur Bestimmung der epithelialen Ionen-Konzentration mindestens eine Elektrode zum Messen des

transepithelialen elektrischen Widerstandes aufweist.

10. Diagnose-Vorrichtung nach Anspruch 9, die zusätzlich Mittel zum Abdichten der mindestens einen Elektrode gegenüber der Umgebung aufweist.
- 5
11. Diagnose-Vorrichtung nach den Ansprüchen 9 oder 10, die eine weitere Elektrode aufweist, die als indifferente Elektrode außerhalb oder innerhalb des Uterus angebracht wird.
- 10
12. Diagnose-Vorrichtung nach Anspruch 7 oder 8, bei der der Messkopf zur Bestimmung der Ionen-Konzentration mit Mitteln zur fluoreszenzoptischen Messung oder mit mindestens einem Ionen-sensitiven Bio- und/oder Ionensensor ausgebildet ist.
- 15
13. Diagnose-Vorrichtung nach Anspruch 12, die bei der der Messkopf zur Bestimmung der Calcium-Ionen-Konzentration durch fluoreszenzoptische Messung ausgebildet ist und gegebenenfalls zusätzlich Mittel zur Applikation eines Calcium-Indikators und/oder gegebenenfalls weiterer Substanzen über den Sondenschlauch auf das Uterusepithel umfasst.
- 20
- 25
14. Diagnose-Vorrichtung nach Anspruch 13, bei der der Messkopf zur Bestimmung der epithelialen Calcium-Ionen-Konzentration mittels fluoreszenzoptischer Messung als Messkopf zur Ausstrahlung von Licht geeigneter Wellenlänge und zur Messung von emittiertem Licht ausgebildet ist.
- 30

15. Diagnose-Vorrichtung nach Anspruch 13, bei der der Messkopf zur Bestimmung der epithelialen Calcium-Ionen-Konzentration mittels fluoreszenzoptischer Messung als Messkopf zur Ausstrahlung von Licht geeigneter Wellenlänge und zur Messung von emittiertem Licht ausgebildet ist.
- 5
16. Diagnose-Vorrichtung nach Anspruch 12, bei der zur Bestimmung der epithelialen Ionen-Konzentration mittels bio- und/oder ionensensorischer Messung der Messkopf mindestens einen Ionen-sensitiven Bio- und/oder - Ionensensor aufweist.
- 10
17. Diagnose-Vorrichtung nach Anspruch 15, bei der der Messkopf mindestens einen Calcium-Ionen-sensitiven Bio- und/oder -Ionensensor aufweist.
- 15
18. Diagnose-Vorrichtung nach Anspruch 15, bei der der Messkopf mindestens einen Calcium-Ionen-sensitiven Bio- und/oder -Ionensensor aufweist.
- 20
19. Diagnose-Vorrichtung nach einem der Ansprüche 7-16, die zusätzlich Mittel zum Einbringen zusätzlicher Vorrichtungen, die Manipulationen im Uteruslumen erlauben und kontrollieren, umfasst.
- 25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE 01/01061

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61B10/00 A61B5/05 A61B1/303 A61B17/425 A61D17/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61B A61D G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 273 110 A (GROUX JEAN) 16 June 1981 (1981-06-16) the whole document ---	7, 8, 12
A	US 5 109 865 A (MATSUURA MASAYUKI) 5 May 1992 (1992-05-05) abstract column 2, line 15 -column 3, line 40; figure 7 ---	7, 9
A	US 5 916 173 A (KIRSNER VACLAV) 29 June 1999 (1999-06-29) abstract; figure 3B ---	7-9
A	EP 0 498 303 A (YISSUM RES DEV CO) 12 August 1992 (1992-08-12) page 2, line 58 -page 3, line 17; figures 3,5 ---	7, 9
-/--		

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

3 August 2001

10/08/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Jonsson, P.O.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/DE 01/01061

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>CH 644 270 A (LICENCIA TALALMANYOKAT) 31 July 1984 (1984-07-31) abstract page 3, left-hand column, line 23-43 page 3, right-hand column, line 46-53 -----</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 01/01061

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4273110 A	16-06-1981	FR 2430754 A	08-02-1980
		DE 2928462 A	31-01-1980
		GB 2025655 A	23-01-1980
		JP 55014097 A	31-01-1980
US 5109865 A	05-05-1992	JP 2059811 C	10-06-1996
		JP 2211137 A	22-08-1990
		JP 7087841 B	27-09-1995
		JP 2041145 A	09-02-1990
		JP 2059799 C	10-06-1996
		JP 7087837 B	27-09-1995
		JP 2041146 A	09-02-1990
		JP 2059800 C	10-06-1996
		JP 7087838 B	27-09-1995
		AT 136761 T	15-05-1996
		AU 4040389 A	05-03-1990
		DE 68926291 D	23-05-1996
		DE 68926291 T	19-09-1996
		EP 0387351 A	19-09-1990
WO 9001304 A	22-02-1990		
US 5916173 A	29-06-1999	NONE	
EP 0498303 A	12-08-1992	IL 97115 A	27-11-1995
		AT 158934 T	15-10-1997
		AU 648637 B	28-04-1994
		AU 1064092 A	06-08-1992
		DE 69222545 D	13-11-1997
		JP 4309336 A	30-10-1992
		US 5240010 A	31-08-1993
ZA 9200665 A	28-10-1992		
CH 644270 A	31-07-1984	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/01061

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES		
IPK 7	A61B10/00	A61B5/05 A61B1/303 A61B17/425 A61D17/00
Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)		
IPK 7	A61B	A61D G01N
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 273 110 A (GROUX JEAN) 16. Juni 1981 (1981-06-16) das ganze Dokument ---	7,8,12
A	US 5 109 865 A (MATSUURA MASAYUKI) 5. Mai 1992 (1992-05-05) Zusammenfassung Spalte 2, Zeile 15 -Spalte 3, Zeile 40; Abbildung 7 ---	7,9
A	US 5 916 173 A (KIRSNER VACLAV) 29. Juni 1999 (1999-06-29) Zusammenfassung; Abbildung 3B ---	7-9
A	EP 0 498 303 A (YISSUM RES DEV CO) 12. August 1992 (1992-08-12) Seite 2, Zeile 58 -Seite 3, Zeile 17; Abbildungen 3,5 ---	7,9
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/>	Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie
<ul style="list-style-type: none"> * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist 		<ul style="list-style-type: none"> *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
3. August 2001		10/08/2001
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Jonsson, P.O.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

i. nationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/01061

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	CH 644 270 A (LICENCIA TALALMANYOKAT) 31. Juli 1984 (1984-07-31) Zusammenfassung Seite 3, linke Spalte, Zeile 23-43 Seite 3, rechte Spalte, Zeile 46-53 -----	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

ationales Aktenzeichen

PCT/DE 01/01061

im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 4273110 A	16-06-1981	FR 2430754 A	08-02-1980
		DE 2928462 A	31-01-1980
		GB 2025655 A	23-01-1980
		JP 55014097 A	31-01-1980
US 5109865 A	05-05-1992	JP 2059811 C	10-06-1996
		JP 2211137 A	22-08-1990
		JP 7087841 B	27-09-1995
		JP 2041145 A	09-02-1990
		JP 2059799 C	10-06-1996
		JP 7087837 B	27-09-1995
		JP 2041146 A	09-02-1990
		JP 2059800 C	10-06-1996
		JP 7087838 B	27-09-1995
		AT 136761 T	15-05-1996
		AU 4040389 A	05-03-1990
		DE 68926291 D	23-05-1996
		DE 68926291 T	19-09-1996
		EP 0387351 A	19-09-1990
WO 9001304 A	22-02-1990		
US 5916173 A	29-06-1999	KEINE	
EP 0498303 A	12-08-1992	IL 97115 A	27-11-1995
		AT 158934 T	15-10-1997
		AU 648637 B	28-04-1994
		AU 1064092 A	06-08-1992
		DE 69222545 D	13-11-1997
		JP 4309336 A	30-10-1992
		US 5240010 A	31-08-1993
ZA 9200665 A	28-10-1992		
CH 644270 A	31-07-1984	KEINE	

专利名称(译)	用于诊断检测子宫上皮细胞的接受性的方法和装置		
公开(公告)号	EP1265533A1	公开(公告)日	2002-12-18
申请号	EP2001921220	申请日	2001-03-20
[标]申请(专利权)人(译)	马普科技促进协会		
申请(专利权)人(译)	马普GESELLSCHAFT ZURFÖRDERUNGDER学问E.V.		
[标]发明人	DENKER HANS WERNER UNIVSKLINIKUM ESSEN THIE MICHAEL UNIVSKLINIKUM ESSEN TINEL HANNA MAX PLANCK INST FUR MOLEKULARE PHYS		
发明人	DENKER, HANS-WERNER,UNIVERSITÄTSKLINIKUM ESSEN THIE, MICHAEL,UNIVERSITÄTSKLINIKUM ESSEN TINEL, HANNA,MAX-PLANCK-INST. FÜR MOLEKULARE PHYS		
IPC分类号	A61B5/00 A61B5/05 A61B10/00 A61D17/00 A61B1/303 A61B17/425		
CPC分类号	A61B5/0084 A61B5/0071 A61B5/05 A61B5/4325 A61B10/0012 A61D17/002		
代理机构(译)	庆祝活动 , JENTSCHURA & PARTNER		
优先权	10014350 2000-03-24 DE		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及一种用于诊断检测子宫上皮的接受性的方法，尤其是当植入窗位于月经周期内的时刻。本发明还涉及一种用于执行所述方法的装置。