

(19) Országkód:

**HU**



**MAGYAR  
KÖZTÁRSASÁG**

**ORSZÁGOS  
TALÁLMÁNYI  
HIVATAL**

## **SZABADALMI LEÍRÁS**

(11) Lajstromszám:

**206 611 B**

(21) A bejelentés száma: 3310/88  
(22) A bejelentés napja: 1988. 03. 25.  
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/SE 88/00148  
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 89/09044

(51) Int. Cl.<sup>5</sup>

**A 61 K 6/00**  
A 61 K 35/32

(40) A közzététel napja: 1992. 02. 28.  
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi  
Közlönyben: 1992. 12. 28. SZKV 92/12

(72) Feltalálók:

Hammarström, Lars, Djursholm (SE)  
Blomlöf, Leif, Lidingö (SE)  
Lindskog, Sven, Varby (SE)

(73) Szabadalmas:

Bioventures N.V., Curacao,  
Holland Antillák (NL)

(54)

### **Eljárás kötődést indukáló zománchártya előállítására**

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás zománchártya előállítására, amellyel csontszövetek részei között kötődés indukálható új csontszövet képződésének megindításával legalább az egyik, de lehetőleg a másik részen is.

A találmány szerinti eljárással előállított zománchártya elsősorban a foggyökérhártya-gyulladás következtében meglazult fogazat kezelésére alkalmazható.

A találmány tárgya eljárás zománchártya előállítására, amellyel csontszövetek részei között kötődés indukálható új csontszövet képződésének megindításával legalább az egyik, de lehetőleg a másik részen is. A találmány szerinti eljárással előállított zománchártya csontszövet-részek közötti kapcsolatok indukálására, például foggyökérhártya-gyulladás (periodontitis) kezelésére alkalmazható.

Ennek az új, biológiai alapú eljárásnak a segítségével kötődést lehet kialakítani csontszövet-részek, például a csontok között. Bár ez a technika általában alkalmas ilyen kötődés indukálására, elsősorban a foggyökérhártya-gyulladás következtében meglazult fogazat kezelését mutatjuk be, megjegyezve, hogy az eljárás bemutatására szolgáló példák nem korlátozhatják a találmány oltalmi körét. A találmány tárgyát képező eljárás részletes bemutatása előtt, annak megalapozására áttekintjük a fogazattal és megbetegedéseivel kapcsolatos biológiai alapismereteket.

Az egészséges fogazat fogai az alsó és felső állcsont fogmedreiben (alveolus dentalis) szilárdan lehoronyozva helyezkednek el. A fogak fogmederbe süllyedő része a foggyökér, amelynek anyaga a dentin; ezt kívülül 0,01–1 mm vastagságú rétegben fogcement (cementum) borítja. A fogcementben többek között kollagénrostok is találhatóak, amelyek áthatolva a foggyökér csonthártáján (periodontium) az állcsonthoz kapcsolódnak és így rögzítik a fogat a fogmederben. A fogcement szerepe tehát igen fontos a fogazat rögzítésében. A periodontium egy kb. 0,2 mm vastag hártya, amely az említett kollagénrostok mellett ereket és idegeket is tartalmaz a sejtek közé ágyazva.

A fogaknak az állcsontból kiálló részét egészen a koronáig a fogíny (gingiva) borítja, amelyet ugyancsak a cementumból kiinduló kollagénrostok rögzítenek a fognyakhoz. A fogínyt az egész szájüreggel együtt lap-hámszövet borítja, amely a fogakat gallér alakban veszi körül; a fognyak és a hámszövet között keskeny rés található.

A fogakat rögzítő szövetek gyulladással megbetegedései igen gyakoriak és különböző mértékben bár, de a világ népességének nagyobb részét érintik. E betegségek kezelése a kórfolyamat lassítására és megelőzésére korlátozódik; jelenleg nem ismert olyan klinikailag alkalmazható módszer, amely helyreállítaná az egészséges állapotot, azaz a gyulladás következtében meglazult fogak és az állcsontok kapcsolatát.

Különleges problémát jelent a gyulladással megbetegedések mellett a fogrögzítő szövetek veleszületett fejlődési rendellenessége is. Az ilyen egyéneknél a periodontitis tünetei már ifjúkorban kialakulnak és a beteg kezelésére az egyetlen megoldás a meglazult fogak eltávolítása és költséges fogművekkel történő pótlása.

A fogazat felszínén megtelepedett baktériumok a fogíny idült gyulladását okozhatják. A gyulladással szövet sejtjei lebontó enzimeket termelnek a baktériumok ellen, de azok képesek a fogak és az állcsont között húzódnó kollagénrostokat is elbontani; ennek következtében a fogíny egyre lejjebb húzódik a fognyakon és kialakul a fogínysorvadás jellegzetes kórképe. A sorva-

dó fogínyben a baktériumok védett környezetet találnak a tömeges elszaporodáshoz, így újabb sejtek jönnek gyulladásba és csakhamar elérik a foggyökér csonthártáját is: a cementum sejtjei elhalnak és a fogmeder csontszövevei elpusztulnak. Ebben az állapotban az érintett fogat már semmi sem rögzíti a fogmederhez és a legkisebb erőhatásra is kieshet.

A kórfolyamat kezelése jelenleg a baktériumok eltávolítására szorítkozik: ha ez sikerül, a fogíny gyulladása megszűnik és a sorvadás megáll. A kezelést célszerűen megelőző módon is alkalmazzuk. Tudnunk kell azonban, hogy ha az így kezelt fogazat sorvadása meg is állítható, az elpusztult csonthártya és fogcement nem regenerálódik, tehát a fogazat egészséges állapota többé nem állítható helyre.

A találmányunk kidolgozásához vezető kutatások során azt tapasztaltuk, hogy a cementum kialakulása a fogak fejlődése során az úgynevezett zománchártyából indul ki, amely teljesen körülvéveszi a fejlődő fogat (fogbimbót). A zománchártya hatására a kollagénrost-sejtek termelik a cementumot, majd a fog kialakulása során a zománchártya eltűnik, bár maradványai kimutathatók. Megfigyeltük továbbá, hogy ha a dentin a periodontium sejtjeivel kerül érintkezésbe – például a foggyökér oldalirányú megfúrása esetén –, akkor a dentinből egy kollagénrostokat nem tartalmazó, csontszerű szövet fejlődése indul ki, amely az egészséges fogat a környező szövethez rögzíti. Ha azonban a fúrt lyukat zománchártyával béleljük ki, úgy a sebész helyén normális cementum fog fejlődni. A kezdeti kísérletekben saját zománchártyát használtunk, de később rájöttünk, hogy más fajok zománchártyája is jó eredménnyel használható: így például a majmokon végzett kísérleteinkben sertésekéből nyert zománchártyát alkalmaztunk.

A fentieknek megfelelően a találmány szerinti új zománchártya kötődés indukálására használható fel csontszövetek részei között úgy, hogy legalább az egyik részen friss csontszövet fejlődését indítjuk meg. Ennek az eljárásnak a lényege az, hogy a kötődést a fogak fejlődése idején funkcionáló zománchártyával indukáljuk.

Mint már utaltunk rá, a találmány szerinti zománchártya különösen a foggyógyászatban, például a foggyökérhártya-gyulladás következtében meglazult fogak kezelésére vagy a baleset következtében elvesztett fogak visszaültetésére használható. Ez azonban nem zárja ki a más területeken történő alkalmazást: elősegítheti például a beültetett protézisek (műfogak, csípőízület) rögzülését a csontszövethez vagy inak rögzülését beültetett csontszövetekhez.

A zománchártya emlősszállatok fejlődésben lévő fogazatából nyerhető. Megfelelő forrás a vágóhídon vágott sertések vagy borjak fogazata, különösen a féléves életkor elérése előtt vágott süldők. Más állatokból, például bárányokból vagy rágcsáló-fajokból is nyerhetünk zománchártyát; az utóbbiak esetében az életkor nem kritikus, mert fogazatuk folyamatosan nő. Az aktív anyag előállítható a zománchártya sejtjeinek in vitro tenyésztéséből vagy rekombináns DNS-sel transzformált baktériumsejtekből is.

A találmány szerinti végtermék lehet egyszerűen a zománchártya – megfelelő mennyiségű vízzel elkeverve –, de ehhez adagolhatunk hordozó- vagy hígítóanyagot is. Fontos, hogy a segédanyagok ne legyenek toxikusak és a fogászat követelményeinek megfelelőeknek.

A foggyökérhártya-gyulladás kezelésére szolgáló eljárás, a találmány szerinti végtermék alkalmazásával, magában foglalja az állcsontok és a fogak kollagénrostokon keresztül megvalósuló kapcsolódásának helyreállítását a cementum és/vagy az állcsont regenerációjának indukálásával. Ez az eljárás azzal jellemezhető, hogy a fog gyökereiről a laphámszövetet – ha jelen van – eltávolítjuk, majd a gyökereken a találmány szerinti zománchártyából egy réteget alakítunk ki.

Előnyösen úgy járhatunk el, hogy a periodontitis által érintett fog gyökereit fedő kötőszövetet (a fogínyt) felmetsszük, a gyökert feltárjuk, a hámszövetet – ha jelen van – eltávolítjuk, majd a gyökert bevonjuk a zománchártyával és a sebzést megfelelő módon (általában varrattal) ellátjuk.

A találmány szerinti végtermék a periodontitis kezelése mellett – mint említettük – fogak vissza- vagy átültetése során is használható. Aránylag gyakran előfordul, hogy tizenéves fiatalok fogai – főleg a frontális fogak – baleset következtében meglazulnak vagy éppen kiesnek, s ilyenkor a fog azonnali visszahelyezése megfelelő gyógyulást hozhat a normális kötődés természetes regenerálásával. A gyakoribb eset azonban az, hogy az azonnali visszahelyezésre nincs lehetőség és a kiesett fog rövidebb-hosszabb ideig nem megfelelő körülmények között, például szabad levegőn van és emiatt a foggyökér csonthártyája elhal. Ha az ilyen fogat helyezzük vissza, az nem fog természetes módon rögzülni és előbb-utóbb végleg elveszti a sérült. Mindmáig nincs módszerünk arra, hogy az ilyen fogak rögzítését a szövetek regenerálása segítségével oldjuk meg.

A találmány szerinti zománchártya ilyen esetekben történő alkalmazásakor az elhalt csonthártyát mechanikus vagy kémiai úton eltávolítjuk, majd a zománchártyával bevonjuk a gyökerek felszínét. Ezután a fogat visszahelyezve a fogmederbe rögzítjük pár hétre, amely idő alatt a cementum regenerációja megindul és a fogat rögzíti az állcsontoz.

A fogtranszplantációval, azaz idegen fogak beültetésével a szervezet immunválasza miatt mindeddig eredménytelenül kísérleteztek, mert az átültetett fogak rendkívül rövid idő alatt, heves gyulladási reakció kíséretében tönkrementek, de az immunazonos személyek között végzett transzplantációk eredménye sem túl bátorító. Az átültetés előtt immunosuppressziót végezni a kezelés hosszadalmassága, valamint a kockázatos mellékhatások miatt nem érdemes, így a fogak transzplantációjára jelenleg nincs olyan klinikai eljárás, amelynek prognózisa hosszabb távon megnyugtató lenne.

A találmány szerinti zománchártya alkalmazásával azonban ez a probléma is megoldható. Az átültetendő fogból eltávolítjuk a fogbelet (pulpát), kitisztítjuk a fogüreget és kitöltjük egy gyökértömő anyaggal. A

gyökerekről mechanikus vagy kémiai úton eltávolítjuk a csonthártyát, majd a szabadabbá tett felszín bevonjuk a zománchártyával. Ezután a fogat megfelelően elhelyezzük a befogadó szájüregében, rögzítjük és megvárjuk, amíg a zománchártya hatására regenerálódó cementum létrehozza természetes kapcsolódást a fog és az állcsont között.

A 203 694 sz. magyar szabadalmi leírásból eljárás ismerhető meg élő csontszövetek részei között kötődést indukáló gyógyászati készítmény előállítására. Ennek során emlőállatok állkapcsából izolált fogbimbókból kiperarálják a zománchártyát, azt homogenizálják, majd további feldolgozásnak vetik alá. Kivonják belőle az aktív fehérje-frakciót és ebből elkülönítik az amelogenin részt. Ezt a hatóanyagot megfelelő hordozó-, hígító- vagy ragasztóanyaggal keverik össze a gyógyszerkészítmény előállítására.

A találmány előnye ezzel a technika állása szerinti eljárással szemben az, hogy az előállított zománchártya mint olyan, önmagában használható fel. Kívánt esetben adagolhatunk hozzá hígító- vagy vivőanyagokat, de nem szükséges azt gyógyszerkészítménnyé alakítani. Míg tehát a hivatkozott magyar szabadalmi leírás szerint meglehetősen bonyolult és költséges eljárással különítik el a zománchártya fehérjefrakcióját, majd ezt a fehérjefrakciót frakcionálják, egy meghatározott molekulatömegű (előnyösen 14–40 KD) amelogenin frakció előállítására és ezt mint hatóanyagot gyógyszerkészítménnyé alakítják, egyebek között adjuvánsok és más adalékanyagok alkalmazásával, a találmány szerinti eljárás kevesebb műveleti lépéssel teszi hozzáférhetővé a kötődés indukálására eredményesen használható zománchártya preparátumot.

A találmány tárgyát a továbbiakban példákban mutatjuk be, amelyek patkányokon, majmokon és embereken végzett fogászati kísérleteket tárgyalnak. A példákban fogunk hivatkozni a mellékelt ábrákra, amelyek a következőket mutatják be:

1. ábra: egy majomfog gyökerének és környező szöveteinek keresztmetszete;
2. ábra: egy majomfog gyökerének és környező szöveteinek keresztmetszete a találmány szerinti kezelés után;
3. ábra: egy kezelés nélkül visszaültetett majomfog gyökerének metszete;
4. ábra: egy, a találmány szerinti kezeléssel visszaültetett majomfog metszete;
5. ábra: röntgen-felvétel egy fog gyökereiről kezelés előtt;
6. ábra: ugyanaz a foggyökér sebészi kezelés után.

Az 1. ábrán egy egészséges majomfog gyökerének és környező szöveteinek kinagyított részletei láthatók. Az állcsont (1) és a gyökér dentinállománya (7) között helyezkedik el a cementum (3) és a csonthártya (5), amelyen keresztül a fog és az állcsont kapcsolata megvalósul.

A példákban a fogak kezelésére használt készítmény zománchártya volt, amit körülbelül 6 hónapos korban vágott süldők fejlődő fogaiból (fogbimbóiból) preparáltunk. A megtisztított alsó állcsontból kimetsztük a

fogbimbókat, amelyek a zománchártyát, dentint, odontoblasztokat és a fogkezdeményt tartalmazzák, kikapartuk belőle a zománchártyát és a pépes állagú kaparékot kevés vízzel sűrű szuszpenzióvá homogenizáltuk ultrahang segítségével.

#### 1. példa

Egy majom fogát kihúztuk és egy órán át levegőn állni hagytuk, majd a csonthártyát eltávolítottuk a gyökerekről, vékonyan bekentük a találmány szerinti zománchártyával és visszahelyeztük a fogmederbe. A 2. ábrán látható, hogy néhány héttel a műtét után a periodontium (5) regenerálódott az állcsont (1) és foggyökér (7) között és új cementum is kialakult a gyökér dentin-állománya (7) és a periodontium (5) között. A találmány szerinti zománchártya használatával tehát sikerült a visszaültetett majomfog természetes kötődését helyreállítani.

#### 2. példa

A példában egy fog sérülésének gyógyulását mutatjuk be. A 3. ábrán láthatók a foggyökér részletei az állcsont (1) és a foggyökér között. Ezt a fogat előbb kihúztuk, a gyökér felületébe üreget fúrtunk, majd visszaültettük a fogmederbe. A metszet 8 héttel a beavatkozás után készült, és jól látható, hogy csak kis területen (nyilakkal jelölve) alakult ki új, csontos kapcsolat a fog és az állcsont között.

A 4. ábrán egy ugyanígy elvégzett kísérlet eredménye látható, ahol a gyökérbe fúrt lyukat a visszaültetés előtt a találmány szerinti zománchártyával töltöttük ki: a periodontium (5) és a cementum (3) regenerálódott és teljesen kitölti a fúrt lyukat, a foggyökér és az állcsont kapcsolata teljesen helyreállt.

#### 3. példa

A példában bemutatott kísérlet célja a találmány szerinti zománchártyának foggyökér környéki sebész gyógyulására gyakorolt hatásának vizsgálata volt. Majmok foggyökereit feltárva a gyökér külső felszínén, a fognyaktól a gyökércsúcs felé 5 mm hosszúságú sebzést ejtettünk fogászati fúróval úgy, hogy a csonthártyát, a cementumot és a csontos fogmeder széli részét is eltávolítottuk. A találmány szerinti zománchártyát a csontsebbe helyezve a lágyszövetek sebét megfelelően elláttuk és gyógyulni hagytuk; az eredményt a gyógyulás után szövettani módszerekkel értékeltük ki.

Mint az előző példákban, itt is azt tapasztaltuk, hogy a gyógyulás csak a találmány szerinti zománchártya jelenlétében volt megfelelő, amikor a fog kötődést újonnan képződött cementum, csonthártya és regenerálódott állcsont biztosította. A kontroll-kísérletben ez nem történt meg, a csontsebet csak a száj nyálkahártyájának hámszövege fedte be. A fentiek alapján a zománchártya használata ajánlható a foggyökérhártya-gyulladás kezelésére.

#### 4. példa

A példában a találmány szerinti zománchártya használatát mutatjuk be foggyökérhártya-gyulladás kezelé-

sére. A kísérlethez periodontitisben szenvedő majmokat választottunk, amelyeket a klinikai gyakorlatban szokásos módon, sebészileg kezeltünk. Az állcsont egyik oldalán feltárt gyökereket bevontuk a találmány szerinti zománchártyával, a másik oldal volt a kontroll. Megfelelő gyógyulási idő után az eredményt szövettani módszerekkel értékeltük ki.

Az eredmények azt mutatták, hogy a zománchártya hatására a fog és az állcsont kapcsolata teljesen regenerálódott; új cementum és csonthártya alakult ki és az állcsonti fogmeder elérte a fogak koronáját. Ez több milliméternyi új kötődés kialakulását jelenti. A kezeletlen fogak gyógyulása jelentéktelen fokú volt: új kötődés alig alakult ki, cementum nem fejlődött. Az eredmények alapján a zománchártya embereken történő kipróbálása is indokoltnak látszott.

#### 5. példa

A példában a találmány szerinti zománchártya használatát mutatjuk be foggyökérhártya-gyulladásban szenvedő betegek kezelésére. A Svéd Orvoskamara és az Etikai Bizottság jóváhagyásával a készítményt a periodontitis szokásos módon végzett sebészi kezelésének kiegészítésére használtuk. Miután a beteg fogakat feltártuk, eltávolítottuk a fogkövet és a foggyökércsúcs körüli gyulladást sarjszövetet, a gyökerek csupasz felszínét beecseteltük a készítménnyel és zártuk a sebet. Az eredményt rendszeresen végzett utóvizsgálattal ellenőriztük; megmértük a fogtartás erősségét, a gingivális indexet és röntgenfelvételt is készítettünk. Összehasonlításként korábban kezelt betegek adatait használtuk fel.

Az eredmények azt mutatták, hogy a zománchártya hatására jelentősen megemelkedett a csontos fogmeder pereme; ez jól látható, ha a kezelés előtt készült röntgenfelvételt (5. ábra) összehasonlítjuk a 6 hónappal később készült felvétellel (6. ábra, az ábrákon a csontos fogmeder peremét nyilak jelölik). A felvételek tanúsága szerint a csontos perem a gyökércsúctól a gyökerek közepéig új csontszövettel egészült ki: ez olyan terápiás eredmény, amit korábban soha nem sikerült elérni. A gyógyulás külső jele az íny regenerálódása és a fognyakon való feljebb húzódása volt.

#### 7. példa

A példában a találmány szerinti zománchártya csontszövet-fejlődést indukáló hatását mutatjuk be. A zománchártyát tartalmazó zselatin kapszulát patkányok hasizomzatába ültettük be műtési úton; kontrollként álműtéteket végeztünk. A seb gyógyulása utána a patkányokat megöltük, a műtési területről röntgenfelvételt készítettünk, megmértük a szövetek <sup>45</sup>Ca izotóp-tartalmát és szövettani metszeteket készítettünk.

Az eredmények azt mutatták, hogy a kezelés helyén cementumhoz hasonló csontszövet fejlődött ki, ami nem volt látható a kontrollállatokban.

A bemutatott példák kétséget kizáró módon bizonyítják a találmány szerinti zománchártya előnyeit és gyakorlati alkalmazhatóságát. Az a tény, hogy a sertésekből származó zománchártya majmokon használható

volt, arra utal, hogy nincs szükség fajazonos készítmény alkalmazására. Ez a találmány szerinti zománchártya egy további nagy előnye, mert a könnyen hozzáférhető nyersanyagból korlátlanul állítható elő.

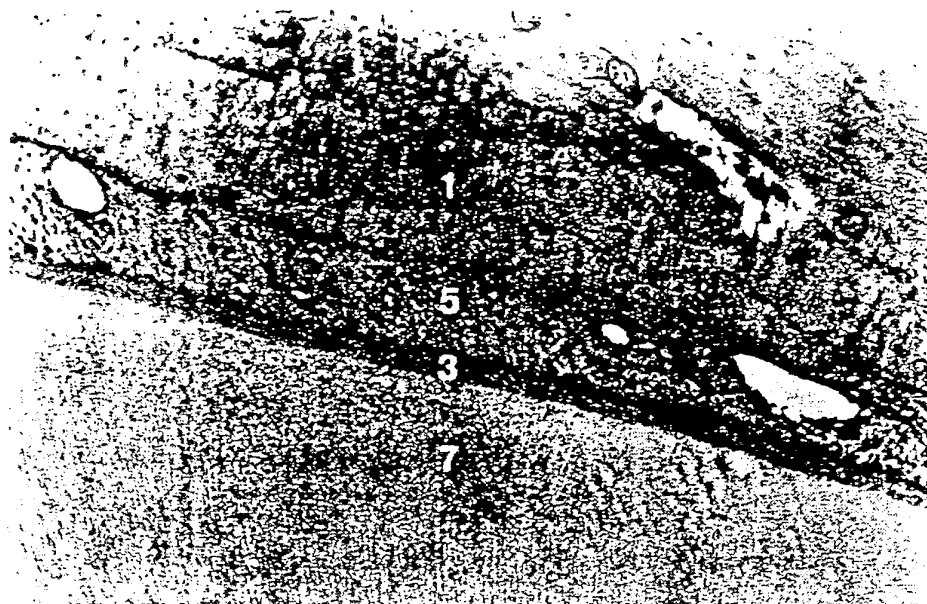
#### SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás élő csontszövetek részei között, legalább az egyik részen új csontszövet képződésének megindításával kötődést indukáló zománchártya készítmény előál-

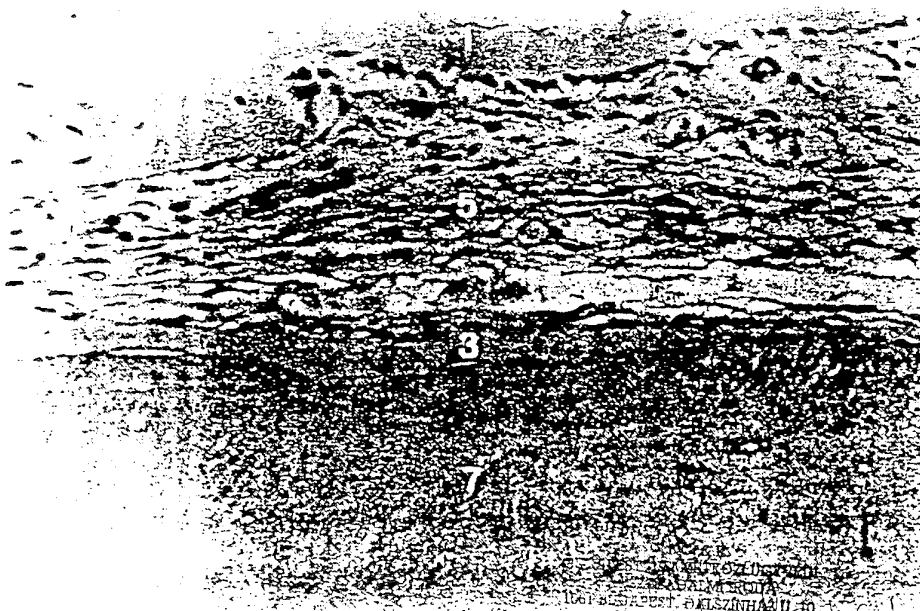
lítására, *azzal jellemezve*, hogy emlősállatok állkapcsából fogbimbókat izolálunk, ezeket a fogbimbókat megszabadítjuk a csonthártyától, a megtisztított fogbimbókat kipreparáljuk a zománchártyát, és azt kívánt esetben

5 megfelelő hordozó- vagy hígítóanyaggal összekeverjük.  
2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a fogbimbókat szarvasmarhából vagy sertésből izoláljuk.

10 3. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy hordozó- vagy hígítóanyagként fogászatilag vagy biológiailag elfogadható anyagokat alkalmazunk.



1. ábra



2. ábra



3. ábra



4. ábra



5. ábra



6. ábra