

Apeksifikasyondan Apeksogenezise Geleneksel ve Güncel Tedavi Yöntemleri

Traditional And Current Treatment Methods From Apexification To Apexogenesis

Derya Ceyhan, Canan Akdik

Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti Anabilim Dalı, Isparta

ÖZET

Bu derlemenin amacı; herhangi bir sebeple canlılığını kaybetmiş, olgunlaşmamış, genç daimi dişlerin gelişimlerinin tamamlanabilmesi için çocuk diş hekimliğinde rutin olarak kullanılan geleneksel tedavi yöntemleri ve günümüzde sıklıkla kullanılmaya başlanan rejeneratif yöntemleri ele almak ve konu ile ilgili yapılmış çalışmalarını sunarak gelecekteki klinik uygulamalara katkı sağlamaktır. Nekrotik genç daimi dişlerin kök gelişiminin sağlanması için farklı materyaller kullanılarak uygulanan apeksifikasyon tedavisinden uzun yıllardır yararlanılmaktadır. Bu yöntemin bazı dezavantajları nedeniyle rejeneratif tedavi yöntemleri gündeme gelmeye başlamıştır. Rejeneratif prosedürlerin temelini oluşturan doku mühendisliği, fonksiyonunu kaybetmiş doku ya da organların yeniden restorasyonuna odaklanmakta olup bu konuda yapılan çalışmalar diş hekimliğinin birçok alanında ümit verici sonuçlar elde edildiğini göstermektedir. İlerleyen teknoloji, yüksek hızlı el aletlerinin geliştirilmesinden biyolojik onarım materyallerine kadar diş hekimliği uygulamaları üzerinde önemli, süregelen bir etkiye sahiptir. Doku mühendisliği uygulamalarının günümüzde kullanılan diş tedavilerine alternatif olabilmesi açısından, hekimlerin bu uygulamalar hakkında detaylı bilgilere sahip olmaları ve araştırmalar yaparak uzun dönem sonuçlarını sunmaları önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apeksifikasyon, çocuk diş hekimliği, doku mühendisliği, rejeneratif tedavi

ABSTRACT

Aims of the review are to discuss the conventional treatment methods routinely used in pediatric dentistry and the regenerative methods that are being started to be frequently used today for the development of immature, young permanent teeth that have lost their vitality for any reason, and to present relevant studies, and so, to contribute to the future clinical practices. For root development of necrotic young permanent teeth, apexification therapy with different materials has been used for many years. Due to some disadvantages of this method, regenerative treatment methods have begun to become a current issue. Tissue engineering, which forms the basis of regenerative procedures, focuses on the restoration of tissues or organs that have lost their function, and performed studies in this subject show promising results in many areas of dentistry. Progressive technology has an important, ongoing effect on dental practices, from the development of high-speed hand tools to the use of biological repair materials. It is important for physicians to have detailed knowledge about these treatments and to present their long-term results by conducting researches in order that tissue engineering practices could be an alternative to currently used dental treatments.

Keywords: Apexification, pediatric dentistry, tissue engineering, regenerative therapy

GİRİŞ

Hastalıkların tedavisinde ilerleyen teknoloji ile birlikte gelişmeler kaydedilmekte, klasik tedavi yöntemleri yerini doku mühendisliği uygulamalarına bırakmaktadır. Doku mühendisliğinin son yıllardaki hızlı gelişimi, tıbbın bütün dallarında olduğu gibi diş hekimliğinde de rejeneratif yöntemleri gündeme getirmektedir. Diş hekimliğinde uygulanan rejeneratif

işlemlerin başlangıcının 1952 yılında Hermann'ın kalsiyum hidroksit (Ca(OH)₂) materyali uygulayarak yaptığı vital amputasyon tedavisi olduğu kabul edilmektedir.¹ Nekrotik, olgunlaşmamış, genç daimi dişlerin kök gelişiminin sağlanması için de Ca(OH)₂ ile apeksifikasyon tedavisinden yararlanılmaktadır.

Bazı dezavantajları nedeniyle günümüzde bu yöntem yerini dişin kök kanalının rejenerasyonunu gerçekleştiren tedavi protokollerine bırakmaya başlamıştır. Rejeneratif prosedürler, pulpa-dentin kompleksi ve kök yapısındaki zarar görmüş hücrelerin yenisi ile yer değiştirilmesini sağlayan biyolojik temelli işlemler olarak tanımlanıp² pulpa canlılığını yeniden oluşturmayı ve kök gelişimini devam ettirmeyi hedeflemektedir.³

Bu derlemenin amacı; herhangi bir sebeple canlılığını kaybetmiş, olgunlaşmamış, genç daimi dişlerin gelişimlerinin tamamlanabilmesi için çocuk diş hekimliğinde rutin olarak kullanılan geleneksel tedavi yöntemlerinden yola çıkarak günümüzde sıklıkla kullanılmaya başlanan rejeneratif yöntemleri ele almak ve konu ile ilgili yapılmış çalışmalarını sunarak gelecekteki klinik uygulamalara katkı sağlamaktır.

Geleneksel tedavi yöntemleri

Apeksifikasyon yöntemi

Genç daimi dişlerde erken dönemde travma, pulpal enflamasyon veya nekroz meydana gelmesi, dentin oluşumunun durarak kök ucunun kapanmamasına ve köklerin ince duvarlı kalmasına yol açmaktadır. Herhangi bir sebeple kök gelişimini tamamlayamamış dişlerde, endodontik tedavi yardımıyla farklı materyaller kullanılarak kök ucunda sert doku bariyeri oluşturulması ve kök gelişiminin tamamlanması apeksifikasyon olarak düşünülmektedir. Bu prosedürün amacı; bakteriyel enfeksiyonu sınırlandırmak, periapikal lezyonun iyileşmesini sağlamak, kök kanal dolgu maddelerinin taşmasını engellemek ve kanal duvarlarını kalınlaştırarak kırılabilirliği azaltmaktır.⁴

Çok sayıda araştırması olan Dr. Alfred L. Frank 1966 yılında, dişin kök ucunun kapanmasını sağlamak amacıyla Ca(OH)_2 kullanmış ve tekniğin literatüre "Frank Tekniği" olarak geçmesini sağlamıştır. Bu yöntemde, kök kanalı içine belirli periyotlarda Ca(OH)_2 yerleştirilerek kök ucunda sert doku bariyeri oluşması beklenmektedir. Yapılan araştırmalar, Ca(OH)_2 'nin kök ucundaki hücreleri uyardığını, bazik pH'sı nedeniyle antibakteriyel etki oluşturarak granülasyon dokusu oluşumunu ve osteoklastik aktiviteyi engellediğini ve bu sayede kök ucunda sert doku oluşumunu başlattığını göstermiştir.⁵⁻⁷ Bununla beraber, Ca(OH)_2 ile yapılan tedavilerde; seans sayısının fazla olması ve uzun tedavi süresi, dentin dokusunun kırılabilirliğinde artma, geçici dolgu materyalinin düşmesine bağlı koronal sızıntı, yetersiz apikal sert doku oluşumu, öngörülemez apikal kapanma ve hasta takibi zorlukları gibi bazı dezavantajlar bildirilmiştir.⁸ Bu nedenlerden dolayı Ca(OH)_2 'ye alternatif olarak içeriğinde dikalsiyum silikat, trikalsiyum

silikat, bizmut oksit ve kalsiyum sülfat bulunduran mineral trioksite aggregate (MTA)'ın apikal tıkaç olarak kullanımı gündeme gelmiştir. MTA'nın Ca(OH)_2 'ye göre avantajları; tek seansta yerleştirilebilme, sert doku oluşumunu daha hızlı uyandırabilme ve tam bir kalsifiye bariyer oluşturma olarak sunulmuştur.^{9,10} Diğer taraftan, MTA ile apeksifikasyon yönteminin, rejeneratif endodontik işlemler kadar etkili olup olmadığı konusunun net olarak bilinmemesi, dişte renklenmeye sebep olması ve pahalı olması klinikte rutin kullanımını olumsuz etkilemiştir.^{10,11}

Araştırmalarda, bu materyallerin, kök gelişiminde dişin kendi doğal yapısına uygun şekilde sonuç vermediği belirtilmiş ve rejeneratif yöntemlerin göz önünde bulundurulması gerektiği vurgulanmıştır.¹⁰ Dolayısıyla, MTA ve Ca(OH)_2 ile yapılan apeksifikasyon yönteminin dezavantajlarını elimine etmek, pulpa-dentin kompleksinin normal fizyolojik işlevini restore edebilmek ve hasarlı doku veya hücreler ile aynı kökenli, canlı orijinal dokuların yer değiştirmesini sağlamak amacı ile rejeneratif tedaviler uygulanmaya ve geliştirilmeye başlanmıştır.²

Güncel tedavi yöntemleri

Doku mühendisliği ve rejenerasyon

Günümüzde önemli gelişmeler gösteren ve biyomedikal mühendisliğinin bir dalı olan doku mühendisliği, hücrelerin yerleştirildiği doğal veya sentetik yapı iskeleleri ve spesifik sinyaller üzerine inşa edilmiş olup fonksiyonunu kaybetmiş doku ya da organların rejenerasyonunu amaçlamaktadır.¹² Doku mühendisliğinde uygulanan yöntemler doku kondüksiyonu, doku indüksiyonu, hücre nakli ve gen tedavisi olarak belirlenmiştir.¹³ Doku kondüksiyonu yönteminin, canlı hücreler ya da biyolojik sinyaller içermediğinden kolay bir uygulama olduğu bildirilmiş, dental implantlar ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu bu yöntemle örnek verilmiştir.¹⁴ Pasif formasyon sağlayan kondüksiyonun aksine, doku indüksiyonunda dokuya yakın olan hücreler belirli sinyaller ile aktive edilmektedir. Bu sinyaller, uzun kemik kırıkları ve periodontal doku rejenerasyonu çalışmaları da dahil olmak üzere birçok klinik çalışmada kullanılmıştır.¹⁵ Hücre naklinin; belirli bir doku için indüktif faktörler bilinmediğinde, büyük bir doku kitlesi veya organa ihtiyaç duyulduğunda veya doku replasmanının vakit kaybetmeden yapılması gerektiğinde oldukça uygun bir yöntem olduğu, bununla birlikte, bu yöntem için gerekli hücrelerin laboratuvarında geliştirilmesi gerektiği belirtilmiştir.^{15,16} Sugito ve ark.¹⁷, ratlarda atrofik submandibular tükürük bezine hücre naklinin mümkün

olduğunu, nakledilen hücrelerin hasarlı bölgeye yapıştığını ve doğal dokuyu etkilemediğini belirtmişlerdir. Rajan ve ark.¹⁸, hücre naklinin, kraniyofasiyal travma rekonstrüksiyonu için uygun bir yöntem olduğunu rapor etmişlerdir. Gen tedavisinin ise kistik fibrozis, kas distrofisi ve çok sayıda maligniteyi de içeren bir grup hastalıkta dünya çapında kabul gördüğü bildirilmiştir.¹⁹

Kök hücreler, hasar görmüş dokulardan biyolojik açıdan işlevsel bir doku geliştirmek için doku mühendisliğinde yaygın şekilde kullanılmaktadır.²⁰ Kök hücreler; kökenlerine göre embriyonik ve erişkin kök hücreler, gösterdikleri farklılaşma yeteneklerine göre de totipotent, pluripotent ve multipotent olarak sınıflandırılmaktadır.² Klinik uygulamalarda kullanılan ve erişkin kök hücre olarak bilinen mezenkimal kök hücrelerin (MSC) en yaygın kaynağı; kemik iliği, yağ dokuları, cilt, göbek kordonu ve plasenta olarak bilinmektedir. MSC'nin yanı sıra diş dokularından daimi diş pulpası kök hücresi (DPSC), diş follikülü kök hücresi (DFSC), apikal papilla kök hücresi (SCAP), periodontal ligament kök hücresi (PDLSC), süt dişi kök hücresi (SHED) gibi çok güçlü kök hücrelerin varlığı da rapor edilmiştir.²¹ Çekilmiş yirmi yaş dişleri, çekilmiş/kendiliğinden düşmüş süt dişleri ve ortodontik tedavi, travma veya periodontal hastalık nedeniyle çekilen dişlerden elde edilen daimi diş pulpası kök hücreleri (DPSC), sürme sonrası dönemde yok olmayan, multipotent özellikteki mezenkimal kök hücrelerdir.²² Diş folikülü kök hücreleri (DFSC), periodontal gelişimin erken evrelerinde Hertwig epitel kök kımı ve dentinden ayrılan dental folikül epiteliyal hücre tabakasında yer almaktadır. Yirmi yaş dişi çekimi sonrası elde edilebilen DFSC'nin osteoblast, fibroblast veya sementoblast oluşturacak progenitör hücrelere sahip olduğu bildirilmiştir.²³ Apikal papilladan elde edilen kök hücreler (SCAP), diş gelişiminin erken evrelerinde gömülü yirmi yaş dişleri veya kök ucu açık dişlerin dental papilinden elde edilmektedir. DPSC'ye oranla daha fazla rejenerasyon kapasitesine sahip olduğu, ancak elde edilmesinin, çoğunlukla gelişimin erken evresindeki gömülü dişlerde çekim endikasyonu bulunmaması nedeni ile zor olduğu belirtilmiştir.²⁴ Periodontal ligament kök hücrelerinin (PDLSC), çekilmiş dişlerin kök yüzeylerinden elde edildiği, periodonsiyum benzeri doku ve hücrelere farklılaşabildiği rapor edilmiştir.²⁴ Süt dişi pulpasından elde edilen kök hücrelerin (SHED) nöral hücreler, adipozitler ve odontoblastlar gibi hücre tiplerine farklılaşabildiği ve klonojenik hücreler olduğu bildirilmiştir. Olgun pulpa dokusuna oranla daha fazla proliferasyon oranına ve hücre popülasyonuna sahip

oldukları, daha immatür özellikteki multipotent hücrelerden oluştukları, dolayısıyla iyi bir kök hücre kaynağı sağladıkları da görülmüştür. Bununla birlikte, daimi diş pulpası kök hücreleri (DPSC) gibi kompleks pulpa-dentin yapısı oluşturamadıkları belirtilmiştir.^{13,25} Diş hekimliği alanındaki kök hücre çalışmaları; genellikle, kraniyofasiyal rejenerasyon, dudak ve damak yarıklarının tedavisi, dişeti ve periodontal ligament rejenerasyonu, dentin ve pulpa rejenerasyonunu hedeflemiştir. Miura ve ark.²⁵ tarafından ratlarda, SHED'nin *in-vivo* transplantasyonundan sonra yeni kemik oluşturduğu, dentin yapımını sağladığı ve süt dişlerinin, zarar görmüş diş dokularının tamir edilmesinde, kemik rejenerasyonu oluşturmada ve nöral doku yaralanmaları ve dejeneratif hastalıkların tedavisinde ideal bir kök hücre kaynağı olabileceği belirtilmiştir. Shi ve ark.²⁶, *ex-vivo* olarak çoğaltılan DPSC, SHED ve PDLSC popülasyonlarının MSC, dentin, kemik, düz kas, nöral doku ve endotel doku üretiminde rol oynadığını ifade etmişlerdir. Prescott ve ark.²⁷, ratlarda dental pulpa kök hücresi, kollajen yapı iskelesi ve dentin matriks protein 1 kullanarak sert doku formasyonu sağlayabilecek, pulpal dokuya benzer bir dokunun oluşturulabileceğini göstermişlerdir. Sauerbier ve ark.²⁸, mezenkimal kök hücreleri (MSC) içeren biyomateryallerin maksiller sinüs augmentasyonunda yeterli kemik rejenerasyonunu sağladığını bildirmişlerdir. Ji ve ark.²⁹, Ca(OH)₂'nin köpeklerden elde edilen DPSC ve PDLSC'nin çoğalma, farklılaşma ve mineralizasyonunu arttırdığını ve hasarlı bölgede dentinin yenilenmesini sağladığını rapor etmişlerdir. Dissanakaya ve ark.³⁰, köpek dişlerindeki kök hücrelerin odontoblast benzeri hücrelere dönüşerek alkalin fosfataz aktivitesini arttırdığını, dentin sialoproteini salgıladığını ve mineralize doku oluşturduğunu göstermişlerdir. Srisuwan ve ark.³¹, pulpası çıkarılan rat dişine dental pulpa kök hücresi ve büyüme faktörü eklemenin doku ve damar oluşumunu arttırdığını ve bu artışın femur içine yerleştirilen dişlere oranla daha fazla olduğunu, odontoblastlara dönüşen hücrelerin odontoblast gibi davranıp dentin sialoproteini salgıladığını bildirmişlerdir. Piva ve ark.³², DPSC'lerin hayvan serumundan veya eksojen büyüme faktörlerinden yoksun ortamda izole edilebileceğini, çoğaltılabileceğini ve pulpa dokusundaki rejeneratif özelliklerini koruyacağını göstermişlerdir. Demirel ve ark.³³, rat dişi replantasyonunda yağ dokusu kök hücresi (ATSC) ve fibrinojen içeren fibrin örtünün (FS) birlikte uygulandığı tedavinin, periodontal ligament (PDL) iyileşmesini geliştirdiğini ve diş avülsiyonu olgularının

tedavisi için terapötik potansiyel taşıdığı rapor etmişlerdir.

Doku mühendisliğinde büyüme faktörleri ve morfojenler de kullanılmaktadır. Büyüme faktörlerinin çok yönlü olduğu ve hücrelerin spesifik hücrelere dönüşümünü uyardığı belirtilmiştir.³⁴ Morfojenlerin epitelyal-mezenşimal etkileşim sırasında morfogenezisi düzenleyen ve ekstrasellüler olarak sentezlenen sinyaller olduğu, morfogenetik sinyal ağının ise Bone Morphogenetic Protein (BMP) gibi proteinleri ve Fibroblast Growth Factor (FGF), Tumor Necrosis Factor (TNF), Transforming Growth Factor- β (TGF- β) gibi büyüme faktörlerini içerdiği bildirilmiştir.³⁵ Altı farklı BMP tanımlanmış olup rh BMP-2, rh BMP-4 ve rh BMP-7' nin rejeneratif dentin formasyonunu arttırdığı gösterilmiştir.³⁶ Yıldırım ve ark.³⁷, odontogenez ve dentinogenezde önemli rolü olan "Transforme edici büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1)" in pulpa iyileşmesini teşvik edici özelliğinin olduğunu bildirmişlerdir. Blumenthal ve ark.³⁸, rh BMP-2'nin periodontal rejenerasyonu arttırdığını gözlemlemişlerdir. Iohara ve ark.³⁹, rh BMP-2 ile muamele edilmiş kültürün, ampute edilmiş pulpa üzerine otojen naklinin, onarıcı dentin oluşumunu uyardığını, rh BMP-2'nin pulpa kök hücrelerinin odontoblastlara farklılaşmasını sağlayarak dentin oluşumunu gerçekleştirebileceğini ifade etmişlerdir. Laurent ve ark.⁴⁰, kalsiyum silikat bazlı biyoaktif materyalin direkt olarak pulpaya uygulanmasının reperatif dentin yapımını indüklediğini, bu indüklenmenin sebebinin pulpa hücrelerinden TGF- β 1'in salgılanması olabileceğini belirtmişlerdir. Chang ve ark.⁴¹, TGF- β 1'in apikal papilla kök hücrelerinin kollajen içeriğini artırdığını ve çoğalmalarını stimüle ettiğini, TGF- β 1'in düşük konsantrasyonlarda (0.5-1 ng/ml) apikal papilla kök hücrelerinin alkalen fosfataz aktivitesini stimüle ettiğini fakat 5 ng/ml'den yüksek konsantrasyonlarda inhibe ettiğini göstermişlerdir.

Doku mühendisliğinde kullanılan yöntemler

Revaskülarizasyon tedavisi

Apikal papillanın mezenşimal kök hücreleri ve dental pulpa kök hücreleri korunarak pulpa boşluğunda vaskülaritenin tekrar sağlanması anlamında kullanılmakta olan bu yöntem ile nekrotik kök kanalının tamamen dezenfekte edilmesi ve kan pıhtısı ile bir fibrin matriksi oluşumu sağlanmaya çalışılmaktadır. Revaskülarizasyonun ilk basamağında, kök kanallarının sodyum hipoklorit (NaOCl) ve siprofloksasin, metranidazol, minosiklin kombinasyonu ile dezenfeksiyonu bulunmaktadır. Dentinin uygun konsantrasyondaki NaOCl ile irrije edilmesi ve ardından

etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) uygulaması ile yapılan dezenfeksiyonun, SCAP'nin canlılığını koruyabilme ve farklılaşma yeteneğini arttırdığı bildirilmiştir.⁴² EDTA uygulanan dentine bağlanan hücrelerin proliferasyon yeteneklerinin, EDTA uygulanmayan dentine bağlanan hücrelerin proliferasyon yeteneklerinden farklı olabildiği ve EDTA ile tedavi edilen dentinden salınan büyüme faktörlerinin, kök hücrelerin hayatta kalmasında etkili olduğu ifade edilmiştir.⁴³ Revaskülarizasyonun ikinci basamağında, başarılı bir dezenfeksiyondan sonra antibiyotik pat kaldırılıp kök ucunda kanama sağlanarak kan pıhtısı oluşturulmaktadır. Son basamakta ise kök ucundaki açıklıktan oluşturulan kan pıhtısı üzerine MTA yerleştirildikten sonra daimi restorasyon yapılmaktadır.⁴⁴ Nekrotik, periapikal lezyonlu, kök gelişimini tamamlamamış dişlerde üçlü antibiyotik pat uygulamasının dentin duvarlarının kalınlaşmasını, kök boyunun uzamasını, kök ucunun kapanmasını ve lezyonun iyileşmesini sağladığı belirtilmiş, bu yöntemin klinik ve radyografik olarak başarılı bulunduğu bildirilmiştir.^{45,46} Dental travmaya uğramış nekrotik genç daimi dişlerde de revaskülarizasyon tedavisinin uygun bir yöntem olduğu belirtilmiştir.^{47,48} Bununla beraber, Çelik ve ark.⁴⁹ tarafından, bu rejeneratif uygulamanın uzun dönem takipleri sonucunda ortaya çıkan komplikasyonlar sunulmuştur. Derin çürüklü üst ikinci küçük azı dişine uygulanan revaskülarizasyon tedavisinin 3 yıllık takibi sonucunda, apikal kapanma sağlandığı ancak kök kanalının tamamen oblitere olduğu, travma hikayesi olan üst sol lateral dişe uygulanan revaskülarizasyon tedavisinin 2 yıllık takibi sonucunda ise apikal lezyonun tamamen iyileştiği, fakat kök gelişiminin devam etmediği gözlenmiş, revaskülarizasyon uygulamaları sonucunda, olguların uzun dönem takip edilmesi gerektiği rapor edilmiştir. Üçlü antibiyotik pat kullanımının özellikle apikal papilladaki kök hücrelere zararlı etkisinin olması ve bakteriyel dirence ve koronal renklenmeye yol açmasından dolayı daha farklı tedavi yöntemlerine gereksinim olduğu da belirtilmiştir.⁵⁰

Erişkin kök hücre tedavisi

Diş hekimliğinde erişkin kök hücre tedavisindeki en basit yöntemin, dezenfekte edilen kök kanal sistemine kök hücrelerin enjekte edilmesi olduğu ifade edilmiştir.⁵¹ Bu yöntemin avantajlarının; otojen kök hücrelerin elde edilmesi ve enjektör ile yerleştirilmesinin nispeten kolay olması, hücrelerin yeni pulpa rejenerasyonunu başlatma potansiyeline sahip olması ve kemik iliği replasmanı da dahil olmak üzere

rejeneratif tıbbi uygulamalarda halihazırda kullanılması olduğu belirtilmiştir.⁵² Bununla birlikte, tekniğin en önemli dezavantajlarından birinin, erişkin kök hücre kaynağının tanımlanması olduğu düşünülmektedir.² Diğer dezavantajları ise hücrelerin hayatta kalma oranlarının düşük olması ve vücudun farklı yerlerine göç ederek anormal mineralizasyon izlerine yol açabilmesi olarak bildirilmiştir.⁵³ Bu durumun çözümünün, hücrelerin fibrin pıhtısı veya diğer iskele yapıları ile birlikte uygulanması olabileceği belirtilmiş, hücrelerin konumlandırılmasının ve varlığının sürdürülmesinin sağlanabileceği ifade edilmiştir.³ Genel olarak, iskeleler, hücreler ve biyoaktif sinyal molekülleri, kök hücrelerin dental dokulara farklılaşmasını başlatmak için gerekmektedir.³ Yeni ve fonksiyonel bir pulpa dokusu oluşturulmak istendiğinde, iskele ve biyoaktif sinyal molekülleri olmadan, sadece kök hücrelerin pulpa odasına enjekte edilmesi ile yüksek başarı elde etme olasılığının oldukça düşük olduğu rapor edilmiştir.²

Pulpa implantasyonu yöntemi

Yetiştirilen pulpa dokusunun kök kanal sistemine transplante edilmesi ile gerçekleştirilen bir tedavi şekli olarak tanımlanmaktadır.² İmplant edilebilen, üç boyutlu pulpa dokusu oluşturmak için birçok filtrenin bir araya getirilerek kullanılması gerektiği belirtilmiştir.⁵⁴ Pulpa dokusunun kaynağı, hastalık veya patojen içermeyen ve laboratuvarında üretilen hücrelerden saflaştırılmış pulpa kök hücre dizisidir. Bu sistemin avantajının, enjeksiyon yoluyla verilenlere oranla hücrelerin daha kararlı olması ve laboratuvarında filtreler üzerinde daha kolay büyümesi olduğu bildirilmiştir. Kültürdeki pulpa dokularının implantasyonu ile ilgili potansiyel problem, hücrelerin kök kanalı duvarlarına düzgün şekilde yapışmasını sağlamak için özel prosedürlerin gerekli olabileceği yönündedir.⁵⁵ *İn-vivo* araştırmalar ve kontrollü klinik çalışmalarda, fonksiyonel pulpa dokusunun oluşmasında ortaya çıkan başarısızlıklar ve artmış immün yanıt rağmen bu doku mühendisliği tedavisinin, hastalar için düşük sağlık riskleri ortaya çıkardığı da rapor edilmiştir.²

İskele implantasyonu yöntemi

Doku mühendisliği tedavisini kolaylaştırmak için pulpa kök hücreleri, hücre organizasyonunu ve vaskülarizasyonunu destekleyebilen üç boyutlu bir yapıya dönüştürülmelidir. Bu işlemin, pulpa kök hücrelerinin gözenekli bir polimer iskelesine ekilerek gerçekleştirilebildiği bildirilmiştir.³ Yüksek gözeneklilik yapısı ve gözenek boyutunun yeterli olmasının, hem hücrelerin hem de besinlerin ekilmesini ve difüzyonunu kolaylaştırmak için gerekli olduğu belirtilmiştir.⁵⁶ Bir iskelenin, kök hücre çoğalmasına ve farklılaşmasına

yardımcı olmak için büyüme faktörleri, hücre sağ kalımını ve büyümesini teşvik eden besin maddeleri ve mikroorganizma gelişimini önleyen antibiyotikleri içermesi gerektiği ifade edilmiştir.⁵⁷ İskele malzemeleri; doğal veya sentetik, biyolojik olarak parçalanabilir veya kalıcı şekilde olabilmektedir. Sentetik malzemeler, insan vücudunda parçalanan polyester malzemeler olan polilaktik asit (PLA), poliglolik asit (PGA) ve polikaprolaktonu (PCL) içermektedir.⁵⁸ Temel dezavantajlarının, yüksek gözeneklilik ve eşit gözenek boyutu elde etme zorluklarıyla ilgili olduğu ifade edilmiştir.⁵⁹ Doğal iskele olarak ekstraselüler matrisin farklı türevleri, hücre büyümesini destekleme kabiliyetini değerlendirmek üzere kullanılmıştır. Ancak kollajen ya da fibrin gibi birçok protetik materyal ve kitosan ya da glikozaminoglikanlar (GAG) gibi polisakaritik malzemeler üzerinde fazla sayıda çalışma yapılmamıştır.^{60,61} Duyarlılık reaksiyonlarının gelişmesi bu tür materyallerin rejeneratif amaçlı kullanımını kısıtlasa da çalışmaların erken dönem sonuçlarının umut verici olduğu rapor edilmiştir.²

Kan pıhtısı kullanımı yöntemi

Kan pıhtısı oluşumu, yeni doku oluşumunu başlatma yeteneğine sahip hücrelerin göç ettiği fibrin gibi bir matriks üreterek revaskülarizasyonun oluşmasını sağlamaktadır. Bu yöntemde, kullanılan antibiyotiklerin (siprofloksasin, metronidazol ve minosiklin karışımı) uygun süre beklenmesinin ve kanal içi irrigantların (NaOCl, klorheksidin, EDTA) uygun şekilde kullanılmasının önemli olduğu görülmüştür.² EDTA irrigasyonu ile smear tabakasının kaldırıldığı, dentin tübüllerinin açığa çıktığı, apikal kanamanın indüklendiği ve böylelikle büyüme faktörlerinin salınımının gerçekleştiği ifade edilmiştir.⁴³ EDTA uygulamasından önce NaOCl veya klorheksidin uygulamasının ise TGF- β 1 salınımını arttırdığı, bununla birlikte, klorheksidinin dentinle uzun süreli temasının büyüme faktörlerinin salınımını engelleyebildiği bildirilmiştir.⁶² Yapılan çalışmalar çoğunlukla kök ucu açık dişler ile ilgili olsa da yaklaşık 1.1 mm apikal bir açıklığa sahip avulse dişlerin beslenmesinin yeterli olduğu ve reimplantasyonunda revaskülarizasyon olasılığının daha yüksek olduğu görülmüştür.⁶³ Bu yöntemin avantajları; teknik açıdan basit olması, pahalı biyoteknolojik sistemler kullanılmadan mevcut ilaçlar kullanılarak tamamlanabilmesi, hastanın kendi kan hücreleri tarafından kök kanal sistemindeki dokunun yenilenmesi ve doku mühendisliği yöntemi ile oluşturulan pulpa dokusuna immün yanıt ve patojen iletimi ihtimalini ortadan kaldırması olarak ifade

edilmiştir. Bununla birlikte, fibrin pıhtısı içerisindeki hücrelerin konsantrasyonu ve bileşimi tedavi öncesinde tahmin edilemediğinden, kan pıhtısı oluşumu doku mühendisliğindeki kritik faktör olarak belirtilmiştir.² Nosrat ve ark.⁶⁴, oluşturulan kan pıhtısı üzerine kalsiyumdan zengin karışım uygulamasının iyi bir örtücülük sağladığını ve dişler üzerinde iyileştirici etkisi olduğunu rapor etmişlerdir.

Trombositten zengin plazma kullanımı yöntemi

İstenmeyen yan etkilere ve risklere neden olabilecek kimyasal olarak işlenmiş moleküllerin veya rekombinant proteinlerin aksine, otolog olarak toplanabilen çeşitli büyüme faktörlerinin doğal bir rezervuarıdır. Hastalardan alınan kanın santrifüj edilerek alt tabakada eritrositler, orta kısımda trombosit-lökosit karışımı ve üstte plazma olmak üzere 3 tabakaya ayrılması ile elde edilmektedir.⁶⁵ Büyüme faktörleri içerdiği, kollajen üretimini uyardığı, yaralanma bölgesine diğer hücrelerin göç etmesini sağlayarak anti-enflamatuar etki ile vasküler büyümeyi ve hücre farklılaşmasını başlattığı görülmüş ve lokal enflamatuar cevabı kontrol ettiği bildirilmiştir.⁶⁶ Trombositten zengin plazma (TZP), rejeneratif endodontik prosedürler için iskele olarak önerilmiştir. Torabinejad ve Turman⁶⁷, TZP'nin ideal bir iskele olduğunu ispatlamışlar ve TZP'yi kullanmanın avantajlarının, kolay uygulanma ve kök kanal sistemi içindeki canlı dokuları indüklemek için daha kısa süre gerektirme olduğunu göstermişlerdir. Kemik dokusunun yenilenmesini ve yumuşak doku iyileşmesini sağlayabildiği rapor edilmiştir.⁶⁸ Bir başka çalışmada, DPSC ile TZP'nin birlikte uygulandığı grupla kıyaslandığında, TZP'nin tek başına kullanımının kök kanal duvar kalınlaşmasını ve mineralize doku oluşumunu daha az sağladığı belirtilmiştir.⁶⁹ Zhang ve ark.⁷⁰ TZP uygulamasının, apikal dokuda kanamanın bulunmadığı klinik olgular için bir seçenek olabileceğini belirtmişlerdir. Nekrotik, olgun köpek dişlerinde, kanal içi dezenfektan olarak üçlü antibiyotik patı ve iskele olarak TZP kullanımının revaskülarizasyon prosedürünün başarı oranını artırdığı rapor edilmiştir.⁷¹ Altaï ve ark.⁷², TZP'nin DPSC'nin proliferasyon, migrasyon ve farklılaşması üzerine olumlu etkisinin olduğunu, bununla birlikte, NaOCl ile dezenfeksiyonun DPSC üzerinde olumsuz etki oluşturabildiğini göstermişlerdir. Apikal periodontitisli, olgunlaşmamış dişlerde, TZP'nin rejeneratif endodontik tedavi için başarılı bir iskele görevi üstlendiği, kök uzunluğunda belirgin bir artış meydana getirdiği, bununla birlikte, TZP ile tedavi sonuçlarının, iskele olarak kan pıhtısı kullanılan konvansiyonel yöntemden farklı olmadığı bildirilmiştir.⁷³

Trombositten zengin fibrin kullanımı yöntemi

Choukron ve ark. tarafından 2001 yılında keşfedilen trombositten zengin fibrin (TZF) yapısı, hastanın kendi kanı kullanılarak elde edilen otolog trombosit konsantratlarından oluşturulan bir iskele materyalidir. Antikoagülan gerektirmeyen, doğal fibrin esaslı bir materyal olduğu için diş hekimliği alanında yaygın olarak kullanıldığı ifade edilmiştir.^{74,75} Yöntemin başarısının, kanın toplanma ve santrifüj edilme hızına bağlı olduğu bildirilmiştir. Yeterince hızlı davranılmadığında fibrinin polimerize olabileceği ve elde edilen ürünün çok düşük miktarda fibrin ağı içerdiği görülmüştür.⁷⁵ Yadav ve ark.⁷⁶, TZF ve MTA'nın birlikte uygulanmasının, başarısız revaskülarizasyon olgularının uzun dönem tedavisinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Nagaveni ve ark.⁷⁷, devital, olgunlaşmamış daimi dişlerde TZF kullanılarak gerçekleştirilen revaskülarizasyon tedavisinin kök boyunun uzamasını, kök ucunun kapanmasını, kök dentin duvarlarının kalınlaşmasını sağladığını, kök kanalı boşluğunun oblitere olduğunu ve periradiküler anatominin normal olduğunu bildirmişler, çocuklarda rejeneratif endodontik tedavide TZF'nin kullanılabilmesi için daha uzun süreli prospektif ve histolojik çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu vurgulamışlardır. Subash ve ark.⁷⁸, TZF'nin kalsiyum silikat bazlı biyoaktif materyal ve üçlü antibiyotik patı tekniği ile kombine olarak kullanımının oldukça başarılı klinik sonuçlar verebileceğini rapor etmişlerdir. Kim ve ark.⁷⁹, TZF ile birlikte uygulanan lipopolisakkaritin, diş pulpası kök hücrelerindeki enflamasyonu inhibe ettiğini ve odontoblastik farklılaşmayı uyardığını bildirmişlerdir.

Gen terapisi

Klinik ortamda gen transferinin yaklaşık 10 yıldır kullanıldığı ve bu yöntemin, immün yetmezliği olan çocukların tedavisi ile uygulanmaya başlandığı belirtilmiştir.¹⁶ Birçok klinik araştırma protokolü kistik fibrozis, kas distrofisi ve çok sayıda maligniteyi de içeren bir dizi hastalıkta gen aktarımı tedavisini onaylamıştır.¹⁹ Başarılı bir gen terapisi için en önemli faktörün, belirli zamanda yeterli miktarda gen indüksiyonunun sağlanabilmesi olduğu, bu durumun istenmeyen toksisite sorunlarını önlediği bildirilmiştir.³ Dokuya gen aktarmanın viral ve non-viral olmak üzere iki yönteminin olduğu bilinmektedir.⁸⁰ Viral yöntemde; hastalık yapıcı etkisi kaybettirilmiş viral bir genom, istenen büyüme faktör geni aktarılıp vücuda verilmekte ve istenen gen dokuya yerleştirilmiş olmaktadır.⁸¹ Non-viral yöntem, ultrason ve elektroporasyon yöntemidir.⁸²

Bu uygulamadaki temel eksikliğin, konakçı hücrelere yabancı genler vermek için yeterli gen transfer vektörlerinin bulunmaması olduğu, çoğu zaman genetik yapısı değiştirilmiş virüslerin kullanıldığı ancak bu virüslerin dezavantajlarının da olduğu rapor edilmiştir.¹⁶ Gen terapisinin revaskülarizasyon tedavilerinde kullanımı üzerine multidisipliner çalışmalara ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir.⁵⁰

Üç boyutlu hücre tedavisi

Üç boyutlu hücre baskı tekniğinin hücreleri tam olarak konumlandırmak için kullanılabildiği ve doğal diş pulpa dokusu yapılarını oluşturma potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir.² Diş pulpa dokusunun yapısını yeniden oluşturmak amacı ile hidrojel yapısındaki iskenenin içinde bulunan hücreleri yayan mürekkep püskürtmeli bir cihaz kullanılmaktadır.⁸³ Bu cihaz, pulpada bulunan fibroblastlar ile odontoblastoid hücrelerin periferiye yerleştirilmesiyle hücreleri ideal olarak konumlandırmış olmaktadır. Oluşturulan dokunun kök kanal sistemine yerleştirilirken pulpa yapısının şekline göre dikkatli yönlendirilme gerekliliğinin bu tekniğin dezavantajı olduğu ifade edilmiştir. Üç boyutlu hücre baskısı tedavisinin *in-vivo* fonksiyonel doku oluşturabileceği henüz gösterilmemiştir.⁸⁴

SONUÇ

Geleneksel tedavi yöntemlerinin meydana getirdiği olumsuz etkilerden yola çıkılarak geliştirilen güncel tedavi yöntemlerinden; çürük dişlerin tedavisi, kaybedilen dişlerin yeniden kazanılması, oral yara ve ülserlerin daha hızlı iyileşmesi, intraosseöz periodontal hasarların iyileştirilmesi, maksiller ve mandibular greftleme prosedürleri gibi birçok alanda ümit verici sonuçlar elde edilmiştir.

Rejeneratif uygulamaların günümüzde kullanılan diş tedavilerine alternatif olarak rutin klinik kullanıma aktarılabilmesi için avantaj-dezavantajları göz önünde bulundurulmalıdır. Revaskülarizasyon yönteminde kullanılan üçlü antibiyotik patın apikal papilladaki kök hücrelere zararlı etkisinin olması, bakteriyel dirence ve koronal renklenmeye neden olması, erişkin kök hücre tedavisinde kök hücre kaynağının tanımlanmasının zor olması, pulpa implantasyonunda fonksiyonel pulpa dokusu oluşturma problemi ve hasta sağlığı için risk bulunması, doğal iskele materyallerinde duyarlılık reaksiyonlarının gelişmesi, sentetik iskele materyallerinde yüksek gözeneklilik ve eşit gözenek boyutu elde etme zorluğunun olması, iskele olarak kan pıhtısı kullanıldığında fibrin pıhtısına sıkışan hücrelerin konsantrasyonu ve bileşiminin önceden tahmin edilememesi, trombositin zengin fibrinin klinik

uygulama zorluğunun olması ve özel ekipman gerektirmesi, gen terapisi yönteminde gen transferini sağlayan vektörün kolay elde edilememesi gibi sınırlamalar olduğundan, bu teknikler günümüzde klinik uygulamalarda sıklıkla kullanılmamaktadır. Literatürdeki çalışmalar çoğunlukla hayvan deneyleri veya *in-vitro* araştırmalardır ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalar olgu raporlarından oluşmaktadır. Çalışma alanlarından dolayı çocuk diş hekimlerinin gelecek vadede rejeneratif uygulamalar hakkında detaylı bilgilere sahip olmaları, çalışmalar yaparak sonuçlarını paylaşmaları ve var olan yöntemleri geliştirmek için çaba göstermeleri önem arz etmektedir. Konu ile ilgili daha fazla sayıda, uzun dönem takipli, *in-vivo* ve *in-vitro* insan, hayvan ve laboratuvar çalışmalarının klinik uygulamalar açısından mevcut dezavantajları elimine edebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Herman BW. On the reaction of the dental pulp to vital amputation and calxyl capping. *Dtsch Zahnarztl Z* 1952; 7: 1446-1447.
2. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *J Endod* 2007; 33: 377-390.
3. Nakashima M. Tissue engineering in endodontics. *Aust Endod J* 2005; 31: 111-113.
4. D'Arcangelo C, D'Amario M. Use of MTA for orthograde obturation of nonvital teeth with open apices: report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104: 98-101.
5. Frank AL. Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. *J Am Dent Assoc* 1966; 72: 87-89.
6. Heithersay GS. Stimulation of root formation in incompletely developed pulpless teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1970; 29: 620-630.
7. Cvek M. Prognosis of luxated non-vital maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with gutta-percha. A retrospective clinical study. *Endod Dent Traumatol* 1992; 8: 45-55.
8. Shabahang S, Torabinejad M, Boyne P, Abedi H, McMillan P. A comparative study of root-end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide, and mineral trioxide aggregate in dogs. *J Endod* 1999; 25: 1-5.

9. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod* 1993; 19: 591-595.
10. Silujjai J, Linsuwanont P. Treatment outcomes of apexification or revascularization in nonvital immature permanent teeth: a retrospective study. *J Endod* 2017; 43: 238-245.
11. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review-part III: clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *J Endod* 2010; 36: 400-413.
12. Mooney DJ, Rowley JA. Tissue engineering: integrating cells and materials to create functional tissue replacements. In: Park K, ed. *Controlled drug delivery*. ACS Books, Washington, D.C., 1997, 333-346.
13. Sırık SZ, Ergin S, Işık G. Diş Hekimliğinde Doku Mühendisliğinin Yeri. *İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fükeltesi Dergisi* 2012; 46: 47-57.
14. Kaigler D, Mooney D. Tissue engineering's impact on dentistry. *J Dent Educ* 2001; 65: 456-462.
15. Baum BJ, Mooney DJ. The impact of tissue engineering on dentistry. *J Am Dent Assoc* 2000; 131: 309-318.
16. Tyagi P, Dhindsa MK. Tissue engineering and its implications in dentistry. *Indian J Dent Res* 2009; 20: 222-226.
17. Sugito T, Kagami H, Hata H. Transplantation of cultured salivary gland cells into an atrophic salivary gland. *Cell Transplant* 2004; 13: 691-699.
18. Rajan A, Eubanks E, Edwards S, et al. Optimized cell survival and seeding efficiency for craniofacial tissue engineering using clinical stem cell therapy. *Stem Cells Transl Med* 2014; 3: 1495-1503.
19. Leiden JM. Gene therapy: promise, pitfalls and prognosis. *N Engl J Med* 1995; 333: 871-872.
20. Annibaldi S, Cristalli MP, Tonoli F, Polimeni A. Stem cells derived from human exfoliated deciduous teeth: a narrative synthesis of literature. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2014; 18: 2863-2881.
21. Ueda M, Nishino Y. Cell-based cytokine therapy for skin rejuvenation. *J Craniofac Surg* 2010; 21: 861-1866.
22. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in-vitro* and *in-vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 13625-13630.
23. Handa K, Saito M, Yamauchi M, et al. Cementum matrix formation *in-vivo* by cultured dental follicle cells. *Bone* 2001; 31: 606-611.
24. Jo YY, Lee HJ, Kook SY, et al. Isolation and characterization of postnatal stem cells from human dental tissues. *Tissue Eng* 2007; 13: 767-773.
25. Miura M, Gronthos S, Zhao M, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 5807-5812.
26. Shi S, Bartold PM, Miura M, Seo BM, Robey PG, Gronthos S. The efficacy of mesenchymal stem cells to regenerate and repair dental structures. *Orthod Craniofac Res* 2005; 8: 191-199.
27. Prescott RS, Alsanea R, Fayad M, et al. *In-vivo* generation of dental pulp-like tissue by using dental pulp stem cells, a collagen scaffold, and dentin matrix protein 1 after subcutaneous transplantation in mice. *J Endod* 2008; 34: 421-426.
28. Sauerbier S, Stricker A, Kuschnierz J, et al. *In-vivo* comparison of hard tissue regeneration with human mesenchymal stem cells processed with either the FICOLL method or the BMAC method. *Tissue Eng Part C Methods* 2010; 16: 215-223.
29. Ji YM, Jeon SH, Park JY, Chung JH, Choung YH, Choung PH. Dental stem cell therapy with calcium hydroxide in dental pulp capping. *Tissue Eng Part A* 2010; 16: 1823-1833.
30. Dissanayaka WL, Zhu X, Zhang C, Jin L. Characterization of dental pulp stem cells isolated from canine premolars. *J Endod* 2011; 37: 1074-1080.
31. Srisuwan T, Tilkorn DJ, Al-Benna S, Abberton K, Messer HH, Thompson EW. Revascularization and tissue regeneration of an empty root canal space is enhanced by a direct blood supply and stem cells. *Dent Traumatol* 2013; 29: 84-91.
32. Piva E, Tarle SA, Nör JE, et al. Dental pulp tissue regeneration using dental pulp stem cells isolated and expanded in human serum. *J Endod* 2017; 43: 568-574.
33. Demirel S, Yalvac ME, Tapsin S, et al. Tooth replantation with adipose tissue stem cells and fibrin sealant: microscopic analysis of rat's teeth. *SpringerPlus* 2016; 5: 656.
34. Lind M. Growth factors: possible new clinical tools. A review. *Acta orthopaedica Scandinavica* 1996; 67: 407-417.

35. Thesleff I, Mikkola M. The role of growth factors in tooth development. *Int Rev Cytol* 2002; 217: 93-135.
36. Aberg T, Wozney J, Thesleff I. Expression patterns of bone morphogenetic proteins (Bmps) in the developing mouse tooth suggest roles in morphogenesis and cell differentiation. *Dev Dyn* 1997; 210: 383-396.
37. Yıldırım S, Alaçam A, Sarıtaş ZK, Oygür T. Transforming Growth Factor B1'in pulpa tedavilerinde kullanılabilirliğinin his-topatolojik olarak araştırılması. *GÜ Diş Hek Fak Derg* 2001; 18: 123-132.
38. Blumenthal NM, Koh-Kunst G, Alves ME, et al. Effect of surgical implantation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in a bioabsorbable collagen sponge or calcium phosphate putty carrier in intrabony periodontal defects in the baboon. *J Periodontol* 2002; 73: 1494-1506.
39. Iohara K, Nakashima M, Ito M, Ishikawa M, Nakasima A, Akamine A. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. *J Dent Res* 2004; 83: 590-595.
40. Laurent P, Camps J, About I. Biodentine (TM) induces TGF-beta1 release from human pulp cells and early dental pulp mineralization. *Int Endod J* 2012; 45: 439-448.
41. Chang HH, Chang MC, Wu IH, et al. Role of ALK5/Smad2/3 and MEK1/ERK signaling in transforming growth factor beta 1-modulated growth, collagen turnover, and differentiation of stem cells from apical papilla of human tooth. *J Endod* 2015; 41: 1272-1280.
42. Ray HL Jr, Marcelino J, Braga R, et al. Long-term follow up of revascularization using platelet-rich fibrin. *Dent Traumatol* 2016; 32: 80-84.
43. Pang NS, Lee SJ, Kim E, et al. Effect of EDTA on attachment and differentiation of dental pulp stem cells. *J Endod* 2014; 40: 811-817.
44. Akyıldız M, Sonmez IS. Rejeneratif endodontik tedavi: Bir literatür derlemesi. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Dent-Special Topics* 2016; 2: 1-12.
45. Taneja S, Kumari M. Use of triple antibiotic paste in the treatment of large periradicular lesions. *J Invest Clin Dent* 2012; 3: 72-76.
46. Kottoor J, Velmurugan N. Revascularization for a necrotic immature permanent lateral incisor: a case report and literature review. *Int J Paediatr Dent* 2013; 23: 310-316.
47. Forghani M, Parisay I, Maghsoudlou A. Apexogenesis and revascularization treatment procedures for two traumatized immature permanent maxillary incisors: a case report. *Restor Dent Endod* 2013; 38: 178-181.
48. Kuşgöz A, Yahyaoğlu G. Travmaya uğramış nekrotik pulpalı genç daimi yan keser dişte pulpa revaskülarizasyonu: 48 aylık takip. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Dent-Special Topics* 2016; 2: 28-32.
49. Çelik BN, Kaya N, Tatlı EC, et al. Revaskülarizasyon Tedavisi Sonrası Gelişen Komplikasyonlar: İki Olgu Sunumu. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Dent-Special Topics* 2016; 2: 38-44.
50. Yılmaz G, Nur BG, Tanrıver M, Altunsoy M, Ok E. Revaskülarizasyon ve uygulama yöntemleri. *EÜ Diş Hek Fak Derg* 2016; 37: 88-98.
51. Kindler V. Postnatal stem cell survival: does the niche, a rare harbor where to resist the ebb tide of differentiation, also provide lineage-specific instructions? *J Leukoc Biol* 2005; 78: 836-844.
52. Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *J Endod* 2005; 31: 711-718.
53. Brazelton TR, Blau HM. Optimizing techniques for tracking transplanted stem cells in-vivo. *Stem Cells* 2005; 23: 1251-1265.
54. Schmalz G. Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials: advantages and limitations. *J Dent* 1994; 22: 6-11.
55. Helmlinger G, Yuan F, Dellian M, Jain RK. Interstitial pH and pO2 gradients in solid tumors in-vivo: high-resolution measurements reveal a lack of correlation. *Nat Med* 1997; 3: 177-182.
56. Sachlos E, Czernuszka JT. Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur Cell Mater* 2003; 5: 29-39.
57. Tabata Y. Nanomaterials of drug delivery systems for tissue regeneration. *Methods Mol Biol* 2005; 300: 81-100.
58. Taylor MS, Daniels AU, Andriano KP, Heller J. Six bioabsorbable polymers: *In-vitro* acute toxicity of accumulated degradation products. *J Appl Biomater* 1994; 5: 151-174.
59. Tuzlakoglu K, Bolgen N, Salgado AJ, Gomes ME, Piskin E, Reis RL. Nano- and micro-fiber combined scaffolds: a new architecture for bone

- tissue engineering. *J Mater Sci Mater Med* 2005; 16: 1099-1104.
60. Griffon DJ, Sedighi MR, Sendemir-Urkmez A, Stewart AA, Jamison R. Evaluation of vacuum and dynamic cell seeding of polyglycolic acid and chitosan scaffolds for cartilage engineering. *Am J Vet Res* 2005; 66: 599-605.
 61. Guo T, Zhao J, Chang J, et al. Porous chitosan-gelatin scaffold containing plasmid DNA encoding transforming growth factor-beta 1 for chondrocytes proliferation. *Biomaterials* 2006; 27: 1095-1103.
 62. Zeng Q, Nguyen S, Zhang H, et al. Release of growth factors into root canal by irrigations in regenerative endodontics. *J Endod* 2016; 42: 1760-1766.
 63. Kling M, Cvek M, Mejare I. Rate and predictability of pulp revascularization in therapeutically reimplanted permanent incisors. *Endod Dent Traumatol* 1986; 2: 83-89.
 64. Nosrat A, Seifi A, Asgary S. Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with a new biomaterial. *J Endod* 2011; 37: 562-567.
 65. Lee JW, Kim BJ, Kim MN, Mun SK. The Efficacy of autologous platelet rich plasma combined with ablative carbon dioxide fractional resurfacing for acne scars: A simultaneous split-face trial. *Dermatol Surg* 2011; 37: 931-938.
 66. Hiremath H, Gada N, Kini Y, Kulkarni S, Yakub SS, Metgud S. Single-step apical barrier placement in immature teeth using mineral trioxide aggregate and management of periapical inflammatory lesion using platelet-rich plasma and hydroxyapatite. *J Endod* 2008; 34: 1020-1024.
 67. Torabinejad M, Turman M. Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: a case report. *J Endod* 2011; 37: 265-268.
 68. Sanchez-Gonzalez DJ, Mendez-Bolaina E, Trejo-Bahena N. Platelet-rich plasma peptides: key for regeneration. *Int J Pept* 2012; 2012: 1-10.
 69. Zhu W, Zhu X, Huang GT, Cheung GS, Dissanayaka WL, Zhang C. Regeneration of dental pulp tissue in immature teeth with apical periodontitis using platelet-rich plasma and dental pulp cells. *Int Endod J* 2013; 46: 962-970.
 70. Zhang DD, Chen X, Bao ZF, Chen M, Ding ZJ, Zhong M. Histologic comparison between platelet-rich plasma and blood clot in regenerative endodontic treatment: an animal study. *J Endod* 2014; 40: 1388-1393.
 71. Rodriguez-Benitez S, Stambolsky C, Gutierrez-Perez JL, Torres-Lagares D, Segura-Egea JJ. Pulp revascularization of immature dog teeth with apical periodontitis using triantibiotic paste and platelet-rich plasma: a radiographic study. *J Endod* 2015; 41: 1299-1304.
 72. Altai M, Kaidonis X, Koblar S, Cathro P, Richards L. Platelet rich plasma and dentine effect on sheep dental pulp cells regeneration/revitalization ability (*in-vitro*). *Aust Dent J* 2017; 62: 39-46.
 73. Alaglı A, Bedi S, Hassan K, AlHumaid J. Use of platelet-rich plasma for regeneration in non-vital immature permanent teeth: Clinical and cone-beam computed tomography evaluation. *J Int Med Res* 2017; 45: 583-593.
 74. Dohan DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol* 2009; 27: 158-167.
 75. Balcı H, Toker H. Trombositten zengin fibrin: özellikleri ve diş hekimliğinde kullanımı. *GÜ Diş Hek Fak Derg* 2012; 29: 183-192.
 76. Yadav P, Pruthi PJ, Naval RR, Talwar S, Verma M. Novel use of platelet-rich fibrin matrix and MTA as an apical barrier in the management of a failed revascularization case. *Dent Traumatol* 2015; 31: 328-331.
 77. Nagaveni NB, Pathak S, Poornima P, Joshi JS. Revascularization induced maturogenesis of non-vital immature permanent tooth using platelet-rich-fibrin: a case report. *J Clin Pediatr Dent* 2016; 40: 26-30.
 78. Subash D, Shoba K, Aman S, Bharkavi SK. Revitalization of an immature permanent mandibular molar with a necrotic pulp using platelet-rich fibrin: a case report. *J Clin Diagn Res* 2016; 10: 21-23.
 79. Kim JH, Woo SM, Choi NK, Kim WJ, Kim SM, Jung JY. Effect of Platelet-rich Fibrin on Odontoblastic Differentiation in Human Dental Pulp Cells Exposed to Lipopolysaccharide. *J Endod* 2017; 43: 433-438.
 80. Li J, Zheng C, Zhang X, et al. Developing a convenient large animal model for gene transfer to salivary glands *in-vivo*. *J Gene Med* 2004; 6: 55-63.

81. Zhang Y, Shi B, Li C, et al. The synergetic bone-forming effects of combinations of growth factors expressed by adenovirus vectors on chitosan/collagen scaffolds. *J Control Release* 2009; 136: 172-178.
82. Heller R, Heller LC. Gene electrotransfer clinical trials. *Adv Genet* 2015; 89: 235-262.
83. Sanjana NE, Fuller SB. A fast flexible ink-jet printing method for patterning dissociated neurons in culture. *J Neurosci Methods* 2004; 136: 151-163.
84. Barron JA, Wu P, Ladouceur HD, Ringeisen BR. Biological laser printing: a novel technique for creating heterogeneous 3-dimensional cell patterns. *Biomed Microdevices* 2004; 6: 139-147.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Derya CEYHAN
Süleyman Demirel Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Pedodonti AD
Isparta-Türkiye
0246-2118837
derya_ceyhan@yahoo.com