

Rejeneratif Endodontik Tedavide Doku Mühendisliği Uygulamaları ve Tedavi Yöntemleri

Feyza Çetinkaya¹

Özge Başar²

Özet

Rejeneratif Endodontik Tedavi (RET) çürük, travma, enfeksiyon gibi sebeplerle hasarlanan pulpa- dentin kompleksi hücrelerini yenilemek üzerine geliştirilen biyolojik temelli bir prosedürdür. RET, kök kanalının dezenfeksiyonun ardından doku iskelesi uygulanmasını ve üzerinin biyoaktif bir malzeme ile kapatılmasını içerir. RET; kök hücreler, bu hücrelerin farklılaşmasını sağlayan büyüme faktörleri ve hücre farklılaşmasının düzenlenmesi için doku iskelesi olmak üzere 3 ana unsurdan oluşur. Yüksek farklılaşma yetenekleri ile RET için umut vadeden dental kök hücreler arasında daimi diş pulpası kök hücreleri (DPSCs), apikal papilla kök hücreleri (SCAPs), süt dişi pulpası kök hücreleri (SHEDs), periodontal ligament kök hücreleri (PDLSCs), dental folikül kök hücreleri (DFSCs) ve inflamatuvar periapikal progenitor hücreler (iPAPCs) bulunmaktadır. Doğal ve sentetik doku iskeleleri, dokulardaki ekstraselüler matriksi taklit etmek üzere kullanılmaktadır. Sentetik doku iskeleleri polilaktik asit (PLA), poliglaktolik asit (PGA), polilaktiko glikolik asit (PLGA), polihidroksi bütirat (PHB), poliepsilon kaprolakton (PCL), kalsiyum ve fosfat materyaller, cam seramik ve biyoaktif camlardan oluşur. Doğal doku iskelesi olarak kan pıhtısı, plateletten zengin fibrin (PRF), plateletten zengin plazma (PRP), konsantrasyon büyüme faktörü (CGF), kollajen, glikozaminoglikanlar, kitosan, hyaluronik asit, demineralize- doğal dentin matriksi ve deri kullanılabilir.

- 1 Uzman Diş Hekimi, Balıkesir Bandırma Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi, feyzgur@gmail.com, 0000-0003-0016-071X
- 2 Uzman Diş Hekimi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi-Diş Hekimliği Fakültesi, Rize, ozge.goren@erdogan.edu.tr, 0000-0003-4514-8132

Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) ve transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) dentin içinde bulunmaktadır ve RET'de aktif rol oynamaktadırlar. RET yöntemleri; kan pıhtılaşma yoluyla revaskülarizasyon, kök hücre tedavisi, pulpa implantasyonu, doku iskelesi implantasyonu, enjekte edilebilir doku iskelesi uygulaması, üç boyutlu hücre yazılımı ve gen tedavisidir.

1.Rejeneratif Endodontik Tedavi

Dentin ve kök yapıları da dahil olmak üzere pulpa-dentin kompleks hücreleri gibi hasarlı yapıları yenisi ile değiştirmek için tasarlanmış biyolojik temelli prosedürler Rejeneratif Endodontik Tedavi (RET) olarak tanımlanmıştır¹⁻². RET kök kanalının dezenfeksiyonunu, ardından MTA gibi biyoaktif bir malzeme ile uygulanan doku iskelesinin üzerinin kapatılmasını içerir³.

Rejeneratif endodontik prosedürler direkt pulpa kuafajı, revaskülarizasyon, apeksogenezis, apeksifikasyon, kök hücre tedavisi ve doku mühendisliğini içerebilir⁴.

Revaskülarizasyonda, pulpanın kısmi veya tamamının vaskülaritesi yeniden kazanılmakta ve kök gelişiminin devam etmesi sağlanmaktadır; bu terim dental travma literatüründen alınmıştır. Doku mühendisliği kavramlarını tamamen içermez ve kanal içi dokuların rejenerasyonu sürecinde iskele ve büyüme faktörü kullanımını önemsizleştirmektedir. Pulpa revaskülarizasyonu endodontik olarak tedavi edilen kök kanalında anjiogenezis indüklemek olarak tanımlanırken; pulpa rejenerasyonu, vaskülarizasyonun yanında fonksiyonel olarak odontoblastların ve sinir liflerinin restorasyonu olarak tanımlanmaktadır⁵. Revitalizasyon oluşan bu canlı dokuların tekrar kök kanal boşluğuna ulaşması olarak tanımlanmaktadır⁶. Maturogenез kökün sürekli gelişimi ve olgunlaşmasını kapsamaktadır. Rejeneratif endodontik prosedürler revitalizasyon, revaskülarizasyon ve maturogenезi kapsar. Hasarlı diş yapısının doku yapısına bakılmaksızın yenilenmesini tanımlamaktadır^{2,7}. Rejeneratif endodonti teriminin, pulpa dokusunun organize onarımını amaçlayan tüm prosedürleri içerdiği için bu terimlerden daha kapsayıcı olduğu düşünülmektedir⁸.

AAE'nin 2018 açıklamasına göre RET başarısı birincil, ikincil ve üçüncül hedeflere ulaşılması ile ilişkilidir.

Birincil amaç: Semptomların ortadan kalkması ve kemikte iyileşmenin görülmesi

İkincil amaç: Kök duvar kalınlığının ve /veya kök uzunluğunun artması (arzu edilmektedir, gerekli olamayabilir) (desirable, but perhaps not essential))

Üçüncül amaç: Canlılık testlerine olumlu yanıt (elde edilirse daha organize bir vital pulpa dokusunu gösterebilir)

RET'in başarısı; apikal periodontitisin iyileşmesi, kök duvarlarının uzaması ve kalınlaşmasına ek olarak pulpa canlılık testlerine olumlu yanıt alınması ile ilişkilidir⁹. Apikal açıklığın boyutu 1 mm'den küçük olan dişlerde kan damarlarının pulpaya girişi zorlaşacağından dolayı revaskülarizasyon zor olabilmektedir. Açık apeksli immatür dişlerde anjiyogenez meydana gelme olasılığı artmakta, bu nedenle pulpa dokusunun rejenerasyonu için en iyi aday olmaktadır¹⁰.

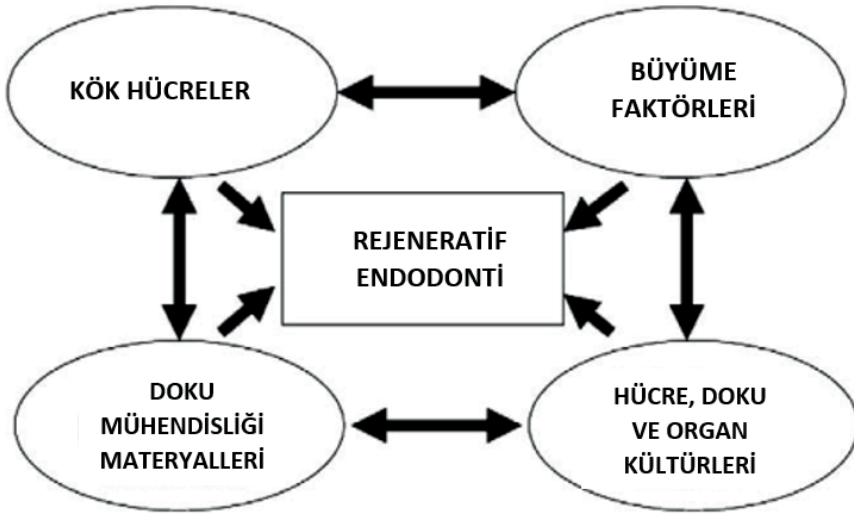
RET'de dokunun sağlığını kazanabilmesi ve tamir olmasına karşılık rejenerasyon gerçekleşmeyebilir, yapılan çalışmalarda onarım sonucu tamamen pulpa dokusu yerine sement, kemik ve fibröz dokudan kısmi fonksiyonlu ektopik dokular oluşabilmektedir¹¹⁻¹⁵. Wang ve arkadaşları kök kalınlığındaki artıştan dentinden ziyade sementin sorumlu olduğunu savunmuşlardır. Düzgün sıralanmış bir odontoblastik tabaka içeren diş pulpasının histolojik görüntüsü ve pulpanın fonksiyonel restorasyonu RET hedeflerinin zirvesidir¹⁶.

Buna rağmen bazı durumlarda yalnızca birinci hedefe ulaşıldığında tedavi başarılı sayılabilir¹⁷. İstenen orijinal doku rejenerasyonu gerçekleşmese de dişin sağlığını koruması hasta açısından en önemli sonuçtur ve hasta açısından nasıl iyileştiğini bir önemi yoktur¹⁸.

Devital immatür daimi dişlerde RET'in kök gelişimi ve apikal kapanmayı sağlamak için etkili bir yöntem olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır ancak oluşum mekanizma tam açıklanamamaktadır. Klinik olarak, revaskülarizasyon gerçekleşen dişin matürasyonunu desteklemek amacıyla kanalda pulpa dokusunun yeniden üretildiği düşünülmüştür. Kanalda oluşan dokunun kemik, periodontal ligament, sement ve fibröz bir bağ dokusu olduğu yapılan bazı insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Bu çalışmalar ile doku mühendisliğinin, genç hastaların immatür devital daimi dişlerinin tedavisi ve fonksiyonel bir dentin-pulpa kompleksinin yeniden oluşturmada umut verici olduğu savunulmuştur^{20,21}.

1.1. Doku Mühendisliği Uygulamaları

Biyolojik tedavi stratejileri ile dokuların yapısal ve fizyolojik açıdan yerine konması, onarımı, geliştirilmesi ve sürdürülmesi doku mühendisliği olarak tanımlanmaktadır²². Pulpa-dentin kompleksi ve hücreleri onarmak veya değiştirmek amacıyla RET'de üç ana unsur bulunmaktadır. Bunlar kök hücreler, kök hücre farklılaşmasını destekleyen büyüme faktörleri ve hücre farklılaşmasının düzenlenmesi için doku iskelesidir¹⁻²³. (Tablo 1)



Tablo 1. Rejeneratif endodontik prosedürler geliştirmek için gerekli olan başlıca araştırma alanları.

1.1.1. Kök Hücre

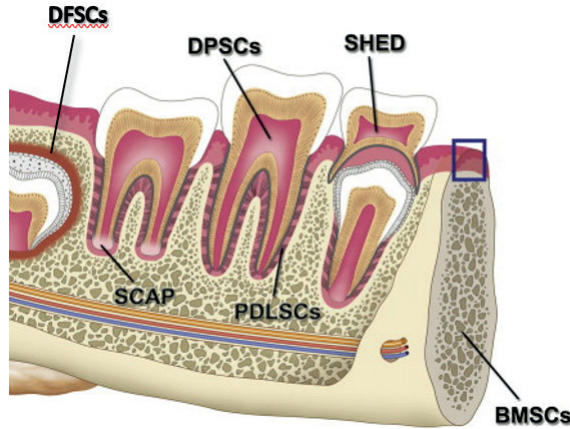
Bütün dokuların kökenini oluşturan kök hücreler sürekli bölünebilir ve farklı hücre türlerine dönüşerek farklı dokuları oluşturabilmektedir²⁴. Doku mühendisliğinde kullanılan hücreler 3 gruba ayrılmıştır. Hastanın kendisinden elde edilen otolog hücreler, farklı insan donörlerinden elde edilen allojen hücreler, farklı canlı türlerinden elde edilen ksenojen hücreler elde edilmektedir²⁵.

Farklılaşma yeteneğine göre kök hücreler üç gruba ayrılır. Özgün herhangi bir hücreye farklılaşabilen totipotent hücreler, birkaç hücre türüne farklılaşabilen pluripotent hücreler, daha kısıtlı hücre türüne farklılaşabilen multipotent hücreler olarak sınıflandırılmaktadır. Fetal (embriyonik) ve postnatal (yetişkin) olarak bir diğer sınıflama yapılmıştır²⁶. Postnatal

kök hücreler multipotenttir; organizmada hasarlı dokuyu onarma, dokunun rejenerasyon ve bütünlüğünü sağlamada görevlidir²⁷. Fetal kök hücrelerin postnatal kök hücrelere göre daha fazla farklılaşma yeteneği mevcuttur. Embriyodan köken alırlar, kendi kendilerine bölünebilirler ve pluripotenttirler. Doku mühendisliği açısından daha değerli olmalarına rağmen kullanımında etik ve yasal açıdan sakıncalar bulunmaktadır²⁸. Buldukları dokudan köken alan postnatal hücreler sınırlı sayıda hücreye dönüşebilmektedir²⁹.

1.1.1.2. Dental Kök Hücreler

Dental kök hücreler süt dişlerinden, postnatal dişlerden ve çekilmiş yirmi yaş dişlerinden elde edilebilmektedir. Yüksek farklılaşma yetenekleri ile RET için umut vadetmektedirler³⁰. Oral dokulara ait birçok kök hücre bulunmaktadır; rejeneratif prosedürler için daha çok daimi diş pulpası kök hücreleri (DPSCs), apikal papilla kök hücreleri (SCAPs), süt dişi pulpası kök hücreleri (SHEDs), periodontal ligament kök hücreleri (PDLSCs), dental folikül kök hücreleri (DFSCs) ve inflamatuvar periapikal progenitör hücreler (iPAPCs) uygulanmaktadır. (Şekil 1)



Şekil 1. Dental kök hücre kaynakları. Daimi diş pulpası kök hücreleri (DPSCs), apikal papilla kök hücreleri (SCAPs), süt dişi pulpası kök hücreleri (SHEDs), periodontal ligament kök hücreleri (PDLSCs), dental folikül kök hücreleri (DFSCs) ve kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücreler. (BMSCs)³¹

DPSC'ler 2009 yılında insan pulpasından elde edilmişlerdir³². Aynı kültür koşullarında kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücrelerden (BMSCs) %30 daha fazla proliferasyon göstermektedirler. Multipotent olan bu hücre

grubu osteoblast, kondroblast, adiposit, düz ve iskelet kası hresi, nöron ve odontoblast benzeri hücelere farklılaşabilmektedirler³³. zelliklerini kaybetmeden dondurularak saklanabilmektedirler³⁴. DPSC bağışıklık hceleri ve hasarlı dentinden salınan kemotaktik ajanları takiben yaralanma bölgesine gelir. DPSC'lerin oluşturduğu onarıcı dentin 'osteodentin' olarak adlandırılan düzensiz ve atbler yapıdadır ve birincil, ikincil ve reaksiyoner dentinden farklıdır. Bu onarım süreci MTA gibi biyoaktif malzemeler ile geliştirilebilir.

Periodontal ligament; diş ve kemik arasında destek görevine sahip, farklı hücre tipleri içeren karmaşık yapıda bir bağ dokusudur³⁵. PDLSCs in vitro olarak osteojenik, kondrojenik ve adipojenik fenotip kazanabilirler³⁶.

SCAPs gelişimini henüz tamamlamamış cnc molar dişlerinden elde edilen kök hcelerdir ve kolay ulaşılmaktadır. Odontojenik, nörojenik, osteojenik, kondrojenik, adipojenik ve hepatojenik fenotip kazanabilirler³⁷. SCAPs primer odontoblastların kaynağıdır ve kök dentininin oluşumundan sorumludur. DPSCs ise reperatif dentin üretiminden sorumlu odontoblastların kaynađıdır³⁸. PDLSC'lerden daha etkili olup yüksek proliferasyon yeteneği gösterirler. Dental apikal papillada yetişkin pulpasından daha fazla erişkin kök hücre bulunur. Bu sebeple dentin rejenerasyonunda DPSC'lerden daha fazla kapasiteye sahiptirler. Apikal papilla ve dental pulpa arasında SCAP'lerin histolojik olarak daha az selüler ve vasküler yapıda olması kaynaklı farklılık vardır¹⁰. PDLSCs ile kombinasyonu ile dental konnektif doku oluşumu sađlanabilir³⁹.

Periodontal ligament, alveol kemiği ve sementi oluşturan nc hceleri içeren dental folikül; diş germinin dental papillası ve mine organı etrafındaki ektomezenşimal dokudan oluřmaktadır⁴⁰. Gömülü 3. molar dişlerin foliküllerinden elde edilen DFSC'ler, farklılaşarak mineralize doku kümeleri oluşturabilirler. Multipotent mezenkimal özellikleri olan bu kök hücelere sementoblast, adiposit, kondrosit gibi mezenkimal kökenli hücelere farklılaşabilmektedirler⁴¹.

Fizyolojik düşme zamanı gelen süt dişlerinin dental pulpasından SHEDs elde edilir. Osteoblast, odontoblast, adiposit ve nöronlara farklılaşabilmektedir. Düşme zamanı gelmiş ve tıbbi atık olan dişlerden non invaziv olarak elde edildikleri için etik ve yasal kısıtlama olmaması avantajıdır⁴². SHEDs kemik oluşumuna sebep olmakta ve in vivo şartlarda dentin üretmektedirler. Daimi dişlerden elde edilen kök hücelere göre proliferasyon kabiliyetleri daha yüksektir ve in vitro olarak kolay ođaltılmaktadırlar⁴³.

Pulpada rejenerasyon sağlamak amacıyla hücre nakli veya hücrelerin ilgili alana çağırılması (cell homing) şeklinde iki farklı teknik kullanılır⁴⁴. Hücre nakli yönteminin yüksek maliyet ve klinik zorluk gibi dezavantajları bulunmaktadır, sinyal moleküllerinden zengin iskelelere ekzojen kök hücre yüklenerek kanal içerisine yerleştirilmektedir. Cell homing yönteminde ise kemotaksis ile endojen kök hücreler kök kanalına getirilerek rejenerasyon sağlanmaktadır⁴⁵. Düşük maliyet ve uygulama kolaylığı ile klinik kullanımı daha uygundur⁴⁶.

1.1.2. Doku İskelesi

Doku iskelelerinin kullanım amacı doğal dokulardaki ekstraselüler matriksi (EM) taklit etmektir. Hücreler kendi EM'ini üretene kadar üç boyutlu olarak uygulanan iskeleler görev almaktadır. İdeal bir doku iskelesi; biyoyumlu, osteoindüktif, steril, toksik olmayan, besin transportuna izin veren, biyolojik çevreyi taklit edebilen, antibiyotik ve büyüme faktör ilavesine izin veren, anjiyogenezis potansiyeli gibi özelliklere sahip olan bir yapıda olmalıdır⁴⁷. İdeal bir doku iskelesi;

- Hücre çoğalması için yeterli gözeneklilik
- Besin, oksijen ve atıkların taşınmasında etkinlik
- Uygun mekanik ve fiziksel güç
- Minimum enflamatuvar yanıt
- Doku rejenerasyon sürecine benzer biyolojik parçalanma yeteneğine sahip olma gibi özelliklere sahip olmalıdır⁴⁸.

Doku iskeleleri doğal ve sentetik (doğal olmayan) olmak üzere iki grupta incelenir. Sentetik doku iskeleleri polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA), polilaktiko glikolik asit (PLGA), polihidroksi bütürat (PHB), poliepsilon kaprolakton (PCL), kalsiyum ve fosfat materyaller, cam seramik ve biyoaktif camlardan oluşur⁴⁹. Doğal doku iskelesi olarak kan pıhtısı, plateletten zengin fibrin (PRF), plateletten zengin plazma (PRP), konsantre büyüme faktörü (CGF), kollajen, glikozaminoglikanlar, kitosan, hyoluronik asit, demineralize- doğal dentin matriksi ve deri kullanılabilir⁵⁰. RET'de doğal doku iskelelerinden en çok kan pıhtısı, PRF ve PRP kullanılmaktadır.

Kan pıhtısı; düşük maliyeti, alerjik olmaması, uygulama kolaylığı sebebiyle diğer seçeneklere göre öne çıkmaktadır. Mevcut RET prosedüründe periapikal bölgeye taşkın preperasyon ile kanama sağlanmaktadır. Kanama ile beraber iskele görevi görebilecek bir pıhtı oluşmakta ve trombosit kaynaklı

büyüme faktörleri ile mezenkimal büyüme faktörlerinin kök kanalı içine g sađlanmaktadır⁵¹. Yapılan histolojik çalışmalar başlatılan intrakanal kanama ile sistemik seviyeden 400-600 kat daha yüksek seviyede CD73 ve CD105 kök hücre markerlarını sağladığını gstermiřtir⁵². Apikal kanatma periapikal enfeksiyonun geniş alanı etkilemesi sebebiyle her zaman sağlanamayabilir, kanama oluşturmanın rejenerasyon için önemi dikkate alınarak periapikal doku iyileşmesi için tedavi süresi uzatılmalıdır⁵³.

Rejeneratif endodontide ilk olarak 2011 yılında immatür daimi dişlerde kullanılan, büyüme faktörü açısından zengin olan PRP ilk jenerasyon otolog trombosit konsantrasyonudur. Normal kan değerinden 5-8 kat daha yüksek trombosit konsantrasyonu ve lökosit bulunması ile karakterizedir. Oldukça hassas olması ve yaklaşık 30 dakikada hazırlanması sebebi ile klinik kullanımı azalmaktadır⁵⁴.

PRP hazırlama sürecini basitleştirmek ve sığır trombinini gibi ksenofaktrleri ortadan kaldırmak amacıyla PRF geliştirilmiştir. PRF; platelet, fibrin, lökosit, büyüme faktörleri, kök hücreler gibi farklı hücre türlerinden oluşan otolog kompozit bir biyomateryaldir⁵⁵. PRF, RET'de istenen ve istenmeyen hücreler arasında bariyer görevi görür ve istenmeyen hücrelerin erken göçünü engellemektedir⁵⁶. PRF hazırlanırken hastadan alınan kan yavaşca santrifüj edilir ve elde edilen fibrinin üç boyutlu, esnek bir ađ olması amaçlanır. Bu iskele hücre ve sitokin göçüne olanak sağlayarak hücrelerin alımını, çoğalmasını ve farklılaşmasını destekleyebilir⁵⁷.

CGF son nesil bir trombosit konsantrasyonu iskele olarak RET'de kullanılmaya bařlanmıřtır⁵⁸. Kontrollü bir santrifüjleme ile hazırlanır ve bu sayede tüpün camına çarpan trombositlerin yırtılmasıyla daha fazla büyüme faktörü açığa ıkar⁵⁹. CGF sitokin açısından zengin olan SCAP'leri kanal içine yönlendirmekte ve rejenerasyonu teşvik etmektedir⁴⁴.

Kollajen ekstraselüler matriksin ana bileşenlerindedir; yapı iskelesi olarak kullanıldığında büyüme faktörleri ve hücrelerin kolayca yerleşimini sağlar ve bozulduktan sonra doğal dokularla yer değerişimine olanak sađlar⁶⁰.

1.1.3. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri hücreler arası iletişime aracılık ederek sinyal molekülü gibi davranırlar ve dental pulpa hücrelerinin çoğalma, farklılaşma, migrasyon ve apoptozislerini içeren hücresel faaliyetlerde aktif rol alırlar⁶¹. Hormonların tersine hedef hücrede lokal etkilidirler. Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) ve transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) dentin içinde bulunmaktadır. Büyüme

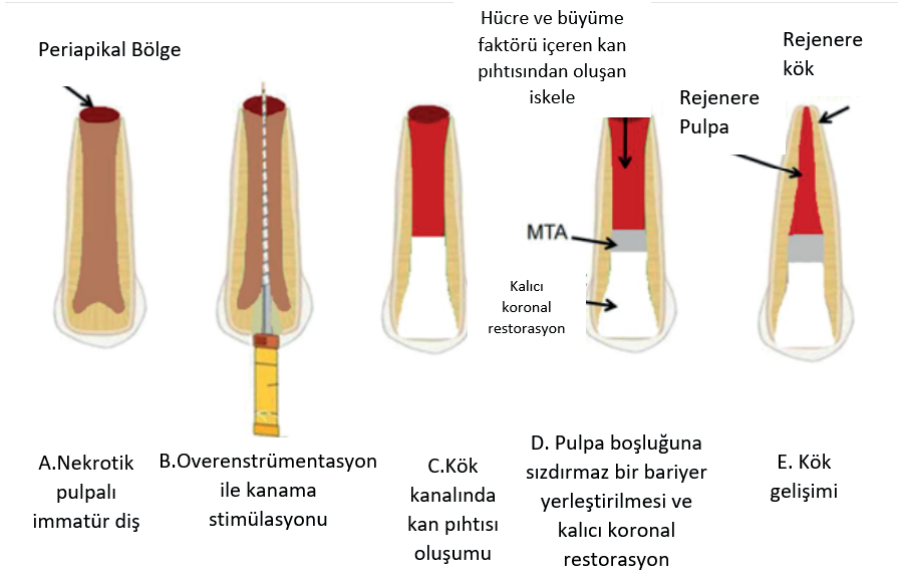
faktörlerinin uygun ortam şartlarında hücre farklılaşmasına yardımcı elemanlar olduğu unutulmamalıdır². Bu faktörlerin, çürük varlığında pulpaya ulaştırılmak üzere salınarak, tersiyer dentin oluşumunun uyarılması, dentin tamiri ve rejenerasyonunda etkili oldukları düşünülmektedir^{62,63}. RET’de dentinin EDTA ile irrigasyonunun dentin matrisine gömülü büyüme faktörlerinin salımını sağladığını gösteren çalışmalar mevcuttur.

1.2. RET yöntemleri

RET yöntemleri; kan pıhtılaşma yoluyla revaskülarizasyon, kök hücre tedavisi, pulpa implantasyonu, doku iskelesi implantasyonu, enjekte edilebilir doku iskelesi uygulaması, üç boyutlu hücre yazılımı ve gen tedavisidir¹.

1.2.1. Kan pıhtısı yoluyla revaskülarizasyon

Revaskülarizasyon yönteminde, kök kanal boşluğu çeşitli irrigasyon solüsyonları ve medikament kullanımıyla dezenfekte edildikten sonra yeni doku oluşumunu başlatacak hücrelerin tutunması için kan pıhtısı oluşturulur ve pulpanın kök kanal boşluğunda yeniden damarlanması sağlanır¹. Yeni sert doku birikimiyle kök duvarlarının kalınlaşması ve kök gelişiminin devam etmesi en önemli avantajdır. İmmatür dişlerin yanı sıra matür, nekrotik pulpaya sahip dişlerde de apikal çapın el aletleri ile 2 mm’e kadar genişletilmesi ve kanama sağlanması ile bu işlem gerçekleştirilebilir¹.



Şekil 1. Revaskülarizasyon prosedürünün şematik gösterimi⁶⁴

1.2.2. Postnatal Kök Hücre Tedavisi

Rejeneratif potansiyeli bulunan erişkin kök hücrelerin, dezenfekte edilen kök kanalına gönderilmesi esasına dayanır. Deri, bukkal mukoza, kemik ve yağ gibi farklı dokulardan postnatal kök hücreler elde edilebilir⁶⁵. Postnatal kök hücre tedavisinin; otojen kök hücrelerin üretiminin kolay olması, enjektör ile kolay uygulanan hücrelerin yeni pulpa dokusunu indüklemeye yeteneği olması gibi avantajları bulunmaktadır⁶⁶. Enjekte edilen hücreler uzun ömürlü değildir ve vücudun farklı yerlerinde anormal bir mineralizasyona sebep olma gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu kök hücrelerin diş dokusuna farklılaşması için büyüme faktörleri ve doku iskelesinin gerekli olduğu gösterilmiştir⁶⁷.

1.2.3. Pulpa İmplantasyonu

Laboratuvarında uygun şartlar altında kök hücrelerden üretilen pulpa dokusu önceden şekillendirilip dezenfekte edilen kök kanalına implante edilir¹ (15). Kültür ortamında invitro çoğaltılan pulpa dokusu rezorbe olabilen polimer nanofiber tabaka, fibronektin veya kollajen-1 benzeri ekstraselüler matriksin protein tabakasının üzerinde yetiştirilir. Ancak kollajen-1 ve 3 üzerinde yetiştirilen pulpa hücreleri henüz başarılı olmamıştır^{68,69}.

Bu yöntem ile elde edilen hücrelerin laboratuvarında daha kolay büyüebilmesi ve enjekte edilebilir yöntemden daha stabil olması önemli bir avantajdır. Ancak implante edilen pulpanın kök kanal duvarlarına adezyonunu sağlamak için özel prosedürler uygulanmalıdır. Tekniği uygulamak, hücre tabakalarının çok ince ve kırılğan olmasından dolayı zordur. Güvenli pulpa implantasyonu teknikleri için çalışmalar devam etmektedir¹⁰.

1.2.4. Doku İskelesi İmplantasyonu

Pulpa kök hücreleri, hücre organizasyonunu ve damarlanmayı destekleyebilen üç boyutlu bir yapı ile desteklenmelidir. Bu amaç için kullanılan doku iskelesi, kök hücre çoğalması ve farklılaşmasına yardımcı olmak amacıyla büyüme faktörleri içermeli, doku gelişiminin iyileşmesini ve hızlı olmasını sağlamalı, çevre dokular tarafından rezorbe edilebilmelidir. Doku iskelesi olarak doğal veya sentetik materyaller tercih edilebilir¹.

1.2.5. Enjekte Edilebilir Doku İskelesi

Kemik gibi fiziksel desteğe ihtiyaç duyan dokular için rijid bir doku iskelesi gerekirken, pulpa benzeri yapısal destek gerektirmeyen dokular için yumuşak, üç boyutlu iskeleler tercih edilebilir⁷⁰. Hidrojeller bu konuya önemli

bir örnektir. Noninvaziv, kök kanal sistemine rahatlıkla enjekte edilebilen ve pulpa rejenerasyonunu destekleyebilen yapılardır. Hidrojellerin pulpa rejenerasyonunu arttırdığı ve organize bir doku dönüşümünü kolaylaştırdığı öne sürülmüştür. İn vivo etkisi tam olarak açıklanamamıştır ve bu konuda çalışmalar devam etmektedir⁷¹.

1.2.6. Üç Boyutlu Hücre Yayıması

Teorik olarak bu teknik ile doğal pulpanın aynısı oluşturulabilmektedir. Püskürtmeli özel bir cihaz yardımı ile hidrojel içine hücre tabakalarının dağılması sağlanarak pulpanın rejenerasyonu hedeflenmektedir⁷². Farklı hücrelerin tam olarak istenilen bölgede konumlanması sağlanabilmektedir ancak yapılan in vivo çalışmalar bu teknik ile fonksiyonel bir doku oluştuğunu gösterememiştir¹.

1.2.7. Gen Tedavisi

Bu tedavi ile vücutta ihtiyaç duyulan kimyasal maddenin vücut dışından salgılanması yerine vücutta üretilmesi sağlanır. Pulpa dokusunun mineralizasyonunu artırmak için gerekli genin aktarımı RET³de kullanılmış ancak bu çalışmaların kesin başarısı henüz gösterilememiştir. Sağlık açısından riskli görülmesi sebebiyle gen tedavilerinin yakın gelecekte RET³de kullanımının olası görünmediği ifade edilmiştir⁷³.

Kaynakça

1. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *Journal of endodontics*. 2007;33(4):377-90.
2. Hargreaves KM, Diogenes A, Teixeira FB. Treatment options: biological basis of regenerative endodontic procedures. *Pediatric dentistry*. 2013;35(2):129-40.
3. Shokouhinejad N, Khoshkhounejad M, Alikhasi M, Bagheri P, Camilleri J. Prevention of coronal discoloration induced by regenerative endodontic treatment in an ex vivo model. *Clinical oral investigations*. 2018;22(4):1725-31.
4. Garcia-Godoy F, Murray PE. Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. *Dent Traumatol*. 2012;28(1):33-41.
5. Gathani KM, Raghavendra SS. Scaffolds in regenerative endodontics: A review. *Dent Res J (Isfahan)*. 2016;13(5):379-86.
6. Kumar H, Al-Ali M, Parashos P, Manton DJ. Management of 2 teeth diagnosed with dens invaginatus with regenerative endodontics and apexification in the same patient: a case report and review. *Journal of endodontics*. 2014;40(5):725-31.
7. Law AS. Considerations for regeneration procedures. *Pediatric dentistry*. 2013;35(2):141-52.
8. Diogenes A, Henry MA, Teixeira FB, Hargreaves KM. An update on clinical regenerative endodontics. *Endodontic topics*. 2013;28(1):2-23.
9. Kontakiotis EG, Filippatos CG, Tzanetakis GN, Agrafioti A. Regenerative endodontic therapy: a data analysis of clinical protocols. *Journal of endodontics*. 2015;41(2):146-54.
10. Huang GT. Pulp and dentin tissue engineering and regeneration: current progress. *Regenerative medicine*. 2009;4(5):697-707.
11. Meschi N, Castro AB, Vandamme K, Quirynen M, Lambrechts P. The impact of autologous platelet concentrates on endodontic healing: a systematic review. *Platelets*. 2016;27(7):613-33.
12. da Silva LAB, Nelson-Filho P, da Silva RAB, Flores DSH, Heilborn C, Johnson JD, et al. Revascularization and periapical repair after endodontic treatment using apical negative pressure irrigation versus conventional irrigation plus triantibiotic intracanal dressing in dogs' teeth with apical periodontitis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2010;109(5):779-87.
13. Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin LM, Huang GT-J. Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/

- revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. *Journal of endodontics*. 2010;36(1):56-63.
14. Andreasen JO, Bakland LK. Pulp regeneration after non-infected and infected necrosis, what type of tissue do we want? A review. *Dental Traumatology*. 2012;28(1):13-8.
 15. Martin DE, De Almeida JFA, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, et al. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *Journal of endodontics*. 2014;40(1):51-5.
 16. Liao J, Al Shahrani M, Al-Habib M, Tanaka T, Huang GT-J. Cells isolated from inflamed periapical tissue express mesenchymal stem cell markers and are highly osteogenic. *Journal of endodontics*. 2011;37(9):1217-24.
 17. Geisler TM. Clinical considerations for regenerative endodontic procedures. *Dental Clinics*. 2012;56(3):603-26.
 18. Galler K, Krastl G, Simon S, Van Gorp G, Meschi N, Vahedi B, et al. European Society of Endodontology position statement: revitalization procedures. *International endodontic journal*. 2016;49(8):717-23.
 19. Hargreaves KM, Law AS. *Regenerative Endodontics*. Chapter 16. *Pathways of the Pulp 10th ed*. Eds, Hargreaves KM, Cohen S. Mosby Elsevier, St Louis, MO, 2011: 602-19.
 20. Lin L, Ricucci D, Huang GJ. Regeneration of the dentine-pulp complex with revitalization/revascularization therapy: challenges and hopes. *International endodontic journal*. 2014;47(8):713-24.
 21. Kim J-H, Kim Y, Shin S-J, Park J-W, Jung I-Y. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *Journal of endodontics*. 2010;36(6):1086-91.
 22. Atala A. Tissue engineering, stem cells and cloning: current concepts and changing trends. *Expert opinion on biological therapy*. 2005;5(7):879-92.
 23. Malhotra N, Mala K. Regenerative endodontics as a tissue engineering approach: past, current and future. *Australian Endodontic Journal*. 2012;38(3):137-48.
 24. MS. Stem sense: a proposal for the classification of stem cells. *Stem cells and development*. 2004;13(5):452-5.
 25. Griffith LG, Naughton G. Tissue engineering--current challenges and expanding opportunities. *science*. 2002;295(5557):1009-14.
 26. Strindberg LZ. The dependence of the results of pulp therapy on certain factors-an analytical study based on radiographic and clinical follow-up examination. *Acta Odontol Scand*. 1956;14:1-175.
 27. Ulmer FL, Winkel A, Kohorst P, Stiesch M. Stem cells--prospects in dentistry. *Schweizer Monatsschrift für Zahnmedizin = Revue Mensuelle Su-*

- isse D'odonto-stomatologic= Rivista Mensile Svizzera di Odontologia e Stomatologia. 2010;120(10):860-83.
28. Gardner R. Stem cells: potency, plasticity and public perception. *Journal of anatomy*. 2002;200(3):277-82.
 29. Wagers AJ, Weissman IL. Plasticity of adult stem cells. *Cell*. 2004;116(5):639-48.
 30. Morszeck C, Reichert TE. Dental stem cells in tooth regeneration and repair in the future. *Expert opinion on biological therapy*. 2018;18(2):187-96.
 31. Marí-Beffa M, Segura-Egea JJ, Díaz-Cuenca A. Regenerative endodontic procedures: a perspective from stem cell niche biology. *Journal of endodontics*. 2017;43(1):52-62.
 32. Peng L, Ye L, Zhou Xd. Mesenchymal stem cells and tooth engineering. *International journal of oral science*. 2009;1(1):6-12.
 33. Volponi AA, Pang Y, Sharpe PT. Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. *Trends in cell biology*. 2010;20(12):715-22.
 34. Pilbauerová N, Suchánek J. Cryopreservation of dental stem cells. *Acta Medica*. 2018;61(1):1-7.
 35. Yu T, Volponi AA, Babb R, An Z, Sharpe PT. Stem cells in tooth development, growth, repair, and regeneration. *Current topics in developmental biology*. 2015;115:187-212.
 36. Aydin S, Şahin F. Stem cells derived from dental tissues. *Cell Biology and Translational Medicine*, Volume 5. 2019:123-32.
 37. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *Journal of endodontics*. 2008;34(2):166-71.
 38. K-i. Fuel Cells: Past, Present and Future. *IEEJ Transactions on Fundamentals and Materials*. 2008;128(5):329-32.
 39. J, Fan W, Deng Q, He H, Huang F. Stem cells from the apical papilla: a promising source for stem cell-based therapy. *BioMed Research International*. 2019;2019.
 40. Felthaus O, Ernst W, Driemel O, Reichert TE, Schmalz G, Morszeck C. TGF- β stimulates glial-like differentiation in murine dental follicle precursor cells (mDFPCs). *Neuroscience letters*. 2010;471(3):179-84.
 41. Zhai Q, Dong Z, Wang W, Li B, Jin Y. Dental stem cell and dental tissue regeneration. *Frontiers of medicine*. 2019;13(2):152-9.
 42. Nakamura S, Yamada Y, Katagiri W, Sugito T, Ito K, Ueda M. Stem cell proliferation pathways comparison between human exfoliated deciduous

- teeth and dental pulp stem cells by gene expression profile from promising dental pulp. *Journal of endodontics*. 2009;35(11):1536-42.
43. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(10):5807-12.
 44. Hong S, Li L, Cai W, Jiang B. The potential application of concentrated growth factor in regenerative endodontics. *International Endodontic Journal*. 2019;52(5):646-55.
 45. Mao JJ, Kim SG, Zhou J, Ye L, Cho S, Suzuki T, et al. Regenerative endodontics: barriers and strategies for clinical translation. *Dental Clinics*. 2012;56(3):639-49.
 46. Kim SG, Zheng Y, Zhou J, Chen M, Embree MC, Song K, et al. Dentin and dental pulp regeneration by the patient's endogenous cells. *Endodontic topics*. 2013;28(1):106-17.
 47. Ma PX. Scaffolds for tissue fabrication. *Materials today*. 2004;7(5):30-40.
 48. Saber SE-DM. Tissue engineering in endodontics. *Journal of oral Science*. 2009;51(4):495-507.
 49. Burdick, J.A.; Mauck, R.L. (2011): *Biomaterials for tissue engineering applications. A review of the past and future trends*. Wien Austria, New York: Springer.
 50. Gathani KM, Raghavendra SS. Scaffolds in regenerative endodontics: A review. *Dental research journal*. 2016;13(5):379.
 51. Ulusoy AT, Turedi I, Cimen M, Cehreli ZC. Evaluation of blood clot, platelet-rich plasma, platelet-rich fibrin, and platelet pellet as scaffolds in regenerative endodontic treatment: a prospective randomized trial. *Journal of endodontics*. 2019;45(5):560-6.
 52. Feigin K, Shope B. Regenerative endodontics. *Journal of Veterinary Dentistry*. 2017;34(3):161-78.
 53. Kim S, Malek M, Sigurdsson A, Lin L, Kahler B. Regenerative endodontics: a comprehensive review. *International endodontic journal*. 2018;51(12):1367-88.
 54. Alsousou J, Ali A, Willett K, Harrison P. The role of platelet-rich plasma in tissue regeneration. *Platelets*. 2013;24(3):173-82.
 55. Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, Salama M, Lee S, Guillemette V, et al. Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clinical oral investigations*. 2017;21(6):1913-27.
 56. Shivashankar VY, Johns DA, Vidyanath S, Sam G. Combination of platelet rich fibrin, hydroxyapatite and PRF membrane in the management of large inflammatory periapical lesion. *Journal of conservative dentistry: JCD*. 2013;16(3):261.

57. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101(3):e37-44.
58. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G, et al. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microscopy research and technique.* 2011;74(8):772-7.
59. Nguyen T-H, Palankar R, Bui V-C, Medvedev N, Greinacher A, Delcea M. Rupture forces among human blood platelets at different degrees of activation. *Scientific reports.* 2016;6(1):1-12.
60. Sumita Y, Honda MJ, Ohara T, Tsuchiya S, Sagara H, Kagami H, et al. Performance of collagen sponge as a 3-D scaffold for tooth-tissue engineering. *Biomaterials.* 2006;27(17):3238-48.
61. Lind M. Growth factors: Possible new clinical tools: A review. *Acta Orthopaedica Scandinavica.* 1996;67(4):407-17.
62. Goldberg M, Lacerda-Pinheiro S, Jegat N, Six N, Septier D, Priam F, et al. The impact of bioactive molecules to stimulate tooth repair and regeneration as part of restorative dentistry. *Dental Clinics.* 2006;50(2):277-98.
63. Galler KM, Buchalla W, Hiller K-A, Federlin M, Eidt A, Schiefersteiner M, et al. Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *Journal of endodontics.* 2015;41(3):363-8.
64. Bansal R, Jain A, Mittal S, Kumar T, Kaur D. Regenerative endodontics: a road less travelled. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR.* 2014;8(10):ZE20.
65. Kindlerl V. Postnatal stem cell survival: does the niche, a rare harbor where to resist the ebb tide of differentiation, also provide lineage-specific instructions? *Journal of leukocyte biology.* 2005;78(4):836-44.
66. Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *Journal of endodontics.* 2005;31(10):711-8.
67. Brazelton TR, Blau HM. Optimizing techniques for tracking transplanted stem cells in vivo. *Stem cells.* 2005;23(9):1251-65.
68. Fukuda J, Khademhosseini A, Yeh J, Eng G, Cheng J, Farokhzad OC, et al. Micropatterned cell co-cultures using layer-by-layer deposition of extracellular matrix components. *Biomaterials.* 2006;27(8):1479-86.
69. Venugopal J, Ramakrishna S. Applications of polymer nanofibers in biomedicine and biotechnology. *Appl Biochem Biotechnol.* 2005;125(3):147-58.

70. Elisseff J, Pulco C, Yang F, Sharma B. Advances in skeletal tissue engineering with hydrogels. *Orthodontics & craniofacial research*. 2005;8(3):150-61.
71. Desgrandchamps F. Endoscopic and surgical repair of the ureter. *Current Opinion in Urology*. 2001;11(3):271-4.
72. Sanjana NE, Fuller SB. A fast flexible ink-jet printing method for patterning dissociated neurons in culture. *J Neurosci Methods*. 2004;136(2):151-63.
73. Yılmaz A. Rejeneratif endodonti. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*. 2012;46(3):91-8.