

Revaskülarizasyon ve Uygulama Yöntemleri

Revascularization and Treatment Methods

Gülşen Yılmaz, Bilge Gülsüm Nur, Mehmet Tanrıver, Mustafa Altunsoy, Evren Ok

Serbest Diş Hekimi, İzmir, Türkiye

ÖZET

Kök gelişimi tamamlanmamış daimi dişlerin kanal tedavisi kök uçlarının açık olmasından dolayı zor olmaktadır. Yapılan literatür değerlendirmesinde, kök gelişimini tamamlamamış enfekte daimi dişlerin tedavisinde günümüze kadar birçok tedavi yaklaşımı uygulanmasına rağmen, en uygun tedavi prosedürü ile ilgili kesin bir yaklaşım olmadığı görülmektedir. Bu derlemenin amacı revaskülarizasyon tedavisinde günümüze kadar kullanılan tedavi yöntemlerini ve son zamanlarda diş hekimliğinde kullanılmaya başlanan doku mühendisliği ve kök hücre ile ilgili güncel yaklaşımları değerlendirmektir.

Anahtar kelimeler: Olgunlaşmamış diş, revaskülarizasyon, üçlü antibiyotik patı, kök hücre, trombosit zengin plazma, trombosit zengin fibrin

ABSTRACT

Endodontic treatment of permanent teeth with immature root formation is hard due to open apices. According to literature review, it was observed that there was no reached consensus on the most appropriate treatment procedure although various treatment modalities were performed on permanent teeth with immature root formation. The aim of this review was to evaluate treatment protocols used in revascularization up to date, recent applications such as tissue engineering and current approaches in stem cell.

Key words: Immature teeth, revascularization, triple antibiotic paste, stem cell, platelet-rich plasma, platelet-rich fibrin

GİRİŞ

Çocuklarda diş ve destek doku travmaları özellikle anterior bölgede yaygın olarak görülmektedir.¹⁻³ Bu yaralanmalar sonucunda genellikle pulpa ekspoz olabilmektedir.⁴ Diş pulpası istenmeyen iritanlara karşı yanıt oluşturabilen immun hücreler ve dentin formu oluşturmak üzere özelleşmiş odontoblast hücreler içermektedir.⁵ Travmalarda pulpal canlılığın kaybolması kök gelişimini durdurarak apeksin açık kalmasına ve kök dentin duvarlarının ince olmasına neden olmaktadır.^{6,7}

Geleneksel olarak; nekrotik pulpalı, kök gelişimini tamamlamamış daimi dişlerin tedavisinde kök ucunun kapanması amacıyla uzun süreli kalsiyum hidroksit Ca(OH)₂ ile apeksifikasyon tedavisi uygulanmaktadır.⁸ Apeksifikasyon; açık apeksli dişlerde kalsifiye bir bariyer oluşturan veya nekrotik pulpalı dişlerde kök formunun gelişimine izin veren yöntem olarak tanımlanmaktadır.⁹ Kalsiyum hidroksit ile apeksifikasyon tedavisinde periapikal iyileşme ve sert doku oluşumu oranının % 79 ve % 96 değerleri arasında olduğu ifade edilse de¹⁰ Andreasen ve Rosenberg'in yaptığı çalışmalar uzun süreli Ca(OH)₂ kullanımının dentini zayıflattığını ve kırılma riskini arttırdığını göstermektedir.^{11,12} Ek olarak bu yöntem uzun süre (6-24 ay; ortalama 1 yıl ± 7 ay) bir çok ara

seans gerektirmektedir.^{13,14} Bu tedavi sürecinde dişler geçici olarak kapatıldığı için yeniden enfekte olma riski vardır ve Ayrıca daimi restorasyon geciktirildiği için dişlerin kırılma riski de artmaktadır.¹⁵

Apeksifikasyon tedavisinde Ca(OH)₂ kullanımına alternatif olarak mineral trioxide aggregate (MTA) ile yapay bir apikal tıkama oluşturulması önerilmektedir.¹⁶ MTA etkili apikal tıkama özelliği^{17, 18}, biyoyuyumu^{19, 20} ve yeterli çalışma zamanına (ortalama 4 saat) sahip olması¹⁵ gibi özellikleri nedeniyle uygun bir apikal tıkama materyalidir. Fakat sertleşme zamanının uzunluğu ve pahalı bir materyal olması gibi dezavantajları bulunmaktadır.²¹ Ayrıca bu uygulama fizyolojik olarak apikal kapanmayı ve kök dentininin kalınlaşmasını sağlayamamaktadır.^{8,11}

Kök gelişimini tamamlamamış, nekrotik pulpalı dişlerde kök gelişiminin sağlanması ve dentin duvarlarının olgunlaşması için ideal tedavi yöntemi; pulpa dentin kompleksinin rejenerasyonuna ve tamirine izin vermek üzere pulpa vitalitesini yerine koyan revaskülarizasyon işlemidir. Revaskülarizasyon; nekrotik pulpalı ve kök gelişimini tamamlamamış dişlerde pulpa boşluğundaki vaskülariteyi yeniden oluşturarak kök gelişiminin devamlılığını ve o bölgedeki apikal periodontitisin iyileşmesini sağlayan bir tedavi işlemidir.²²

Revaskülarizasyon tedavisinin başarılı olabilmesi için kök ucu açık dişlerin apikal kısmındaki vital dokuların zarar görmemesi gerekmektedir.²³ Bu nedenle irigasyon ajanları dezenfeksiyonda önemli role sahiptir. Bu irigasyon ajanları maksimum antimikrobiyal etki göstermeli, aynı zamanda kök hücre ve fibroblastların canlılığı ve proliferasyon kabiliyetine izin vermeleri için minimum sitotoksik etkili olmaları gerekmektedir.²⁴ Bu derlemenin amacı revaskülarizasyon tedavisinde kullanılan kök kanal ilaçları, doku iskelesi olarak kullanılan materyalleri ve doku mühendisliğiyle ilgili güncel yaklaşımları değerlendirmektir.

Üçlü Antibiyotik Patı (ÜAP): Üçlü antibiyotik pat (ÜAP) uygulamaları revaskülarizasyon tedavilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tedavi protokolünde metranidazol, minosiklin ve siprofloksasinden oluşan üçlü antibiyotik 1:1:1 oranında hazırlanarak, distile su veya gliserinle homojen bir şekilde karıştırılarak pat formuna getirilip kök kanalı içine uygulanmaktadır.²⁵

Metranidazol, siprofloksasin ve minosiklin içeren üçlü antibiyotik pat ilk defa 1996 yılında Hashino ve ark.²⁵ tarafından geliştirilmiştir. Hashino ve ark.²⁵ bu ilaçların tek başına kullanıldığında bakterileri tamamen ortadan kaldıramadığını, bir arada kullanıldıklarında ise etkinliklerinin arttığını göstermişlerdir. Sato ve ark.²⁶ çalışmalarında bu ilaç kombinasyonunun kök kanal dentinindeki derin tabakalarda bakterisid etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Ek olarak; Windley ve ark.²⁷ gerçekleştirdikleri hayvan çalışmasında kanal yıkama solüsyonu olarak NaOCl ve kanal içi ilaç olarak ÜAP kullanmışlardır ve çalışmalarının sonucunda bakterilerde istatistiksel olarak azalma gözlemlenmiştir.

Er ve ark.²⁸ geniş periapikal lezyonu ve dens invaginatusu olan alt çene küçük azı dişini Ca(OH)₂ ile tedavi etmeye başlamışlar, ancak 3 ay sonunda periapikal lezyonda genişleme görülünce tedavi protokolünü kanal içi ilaç olarak ÜAP uygulanması şeklinde değiştirmişlerdir ve bu tedavi sonucunda belirgin bir periapikal iyileşme gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Taneja ve ark.²⁹ geniş periapikal lezyonlu ve kök gelişimini tamamlamamış dişlere her ay değiştirmek koşulu ile ÜAP uygulamışlardır. Çalışmalarında 3 ay sonra dişin klinik olarak asemptomatik olduğunu ve radyografik olarak periapikal lezyonun iyileştiğini bildirmişlerdir. Gomes-Filho ve ark.³⁰ çeşitli deneysel çalışmalarda bu karışımın biyouyumlu olduğunu bulmuşlardır. Ancak Ruparel ve ark.³¹ kök hücreler üzerinde; ÜAP, ikili antibiyotik patı (metranidazol, siprofloksasin), modifiye üçlü antibiyotik patı (siprofloksasin, metranidazol, sefaklor), Augmentin (Champs Pharmacy, San Antonio, TX) ve Ca(OH)₂'in

sitotoksik etkilerini araştırmışlar ve bu antibiyotiklerin konsantrasyona bağlı olarak apikal papilladaki kök hücrelere zararlı etkileri olduğunu, ayrıca Ca(OH)₂'in tüm konsantrasyonlarda kök hücre yaşamı ve çoğalmasını uyardığını rapor etmişlerdir. Ek olarak; bu çalışmada ÜAP'nin bakteriyel dirence ve alerjik reaksiyonlara sebep olabileceğini de bildirmişlerdir.

Minosiklin kalsiyum iyonlarına şelasyon ile bağlanıp çözünmez bir yapı oluşturmaktadır.³² Bu da dişte renklenmeye sebep olduğu için kök kanallarında kullanımını sınırlı hale getirmektedir.³³ Literatürde renklenmeye sebep olduğu için minosiklin yerine amoksisilin, sefaklor, sefroksadin, fosfomisin veya rokitamisin kullanımı öneren çalışmalar vardır.³⁴⁻³⁶ Ayrıca kron renklenmesini önlemek için giriş kavitesinin iç yüzeylerine bonding ajan kullanımı da önerilmektedir fakat bu sadece renklenmeyi azaltmaktadır, renklenmeyi tamamen engelleyememektedir.³⁷

Kalsiyum Hidroksit ve %2'lik Klorheksidin Diglukonat Jel Kombinasyonu: Üçlü antibiyotik patının bakteriyel dirence sebep olması, alerjik reaksiyon oluşturabilmesi ve içeriğindeki minosiklinden dolayı koronal renklenmeye neden olması gibi dezavantajları bulunmaktadır.³⁷ Bu yüzden 1:1 oranında karıştırılan Ca(OH)₂ ve % 2'lik klorheksidin diglukonat (CHX) jel kombinasyonu pat kıvamında hazırlanarak revaskülarizasyon tedavisinde kullanımı denenmiştir.^{38,39} Ca(OH)₂ antimikrobiyal özelliği olması^{40, 41}, koronal renklenmeye neden olmaması⁴², dentinden büyüme faktörleri ve biyomoleküllerin salınımını sağlayabilmesi⁴³ gibi özelliklerinden dolayı diğer kanal içi ilaçlara alternatif olarak kullanılabilir. CHX ise antimikrobiyal etkisi olması ve kök ucu açık dişlerde periapikal dokularla temasında diğer solüsyonlara göre daha az toksik özellik göstermesinden dolayı revaskülarizasyon tedavilerinde tercih edilebilmektedir.^{44, 45}

Soares ve ark.³⁹ pulpal nekroz görülen ve kök gelişimini tamamlamamış santral kesici dişte koronal ve orta üçlüye Ca(OH)₂ ve CHX'in % 2'lik formunu uygulamışlardır. Çalışmalarının sonucunda dişte kök kanal genişliğinin azaldığını, dentin duvarında mineralize doku biriktiğini ve apikal kapanma sağlandığını rapor etmişlerdir.

Nagata ve ark.³⁸ çalışmalarında kök gelişimini tamamlamamış 11 hastanın nekroze pulpal üst keser dişine ÜAP, yine benzer semptomları gösteren diğer 11 hastanın üst keser dişine Ca(OH)₂ ve CHX'in % 2'lik formunu uygulamışlardır. Çalışmalarının sonucunda

ÜAP kullanılan dişlerde koronal renklenme görülmesi dışında her iki uygulamada da benzer klinik ve radyografik bulgular elde etmişlerdir. Ca(OH)₂'in farklılaşmamış hücre ve dentin kök duvarlarına etkisi hala tartışmalı olsa da; bu çalışma % 2'lik CHX jel ile kombine kullanıldığında dentin duvar kalınlığını artırıp, kök gelişimini sağlayarak apikal tıkanma oluşturduğunu göstermektedir. Ca(OH)₂, % 2'lik CHX ile birlikte kullanıldığında endodontik patojenlere karşı antimikrobiyal etkisi artmaktadır.^{46,47}

Buna karşın; Andreassen ve ark.¹¹ kanal içerisine Ca(OH)₂ uygulamasının dentinle etkileşiminden dolayı kökün kırılma riskini arttırdığını bildirmişlerdir. Bose ve ark.⁴⁸ ve Banchs ve ark.⁴⁹ çalışmalarının sonucunda ise Ca(OH)₂'in yüksek pH'ından dolayı apikal kök hücrelerinin etkilenmemesi için yalnızca koronal yarıda kullanılmasını önermektedirler. Ruparel ve ark.³¹ in vitro çalışmalarında Ca(OH)₂'in değişik konsantrasyonlarda kullanımının apikal papilladaki kök hücrelerin proliferasyonunu arttırdığını göstermişlerdir. Ayrıca, son zamanlarda Iwaya ve ark.⁵⁰, Neha ve ark.²² ve Çehrel ve ark.⁵¹ tarafından gerçekleştirilen vaka çalışmalarında kök kanalının servikal üçlüsünde Ca(OH)₂ kullanımı ile revaskülarizasyon tedavisinde başarılı sonuçlar elde edildiğini bildirmişlerdir.

Fotodinamik Terapi: Son zamanlarda modern diş hekimliğinde fotodinamik terapi (PDT) ile dezenfeksiyon yöntemi de kullanılmaktadır. Fotodinamik terapi ışığa duyarlı bir solüsyon ve düşük güçlü lazer ışığının özgül bir kombinasyonundan oluşmaktadır.⁵² Lazer ışığı, ışığa duyarlı ajanı aktive ederek mikroorganizmaları öldüren tekli oksijen radikallerini ve serbest radikalleri açığa çıkarır ve bir takım kimyasal reaksiyonlar ile enerji aktarım şelalesi oluşturur.⁵³

Lee ve ark.⁵⁴ PDT'nin tekrarlayan kanal içi enfeksiyonlardan en sık izole edilen mikroorganizma olan *Enterococcus faecalis*'i öldürmede başarılı olduğunu rapor etmişlerdir. Bonsor ve ark.⁵⁵ irreversibl pulpitis ve periradikuler periodontitis semptomları gözlenen dişler üzerinde gerçekleştirdikleri in vivo çalışmalarının sonucunda, PDT'nin ışığa duyarlı solüsyon ve doğru enerji gücünün uygun kombinasyonda kullanıldığında kültüre edilen tüm bakterileri elimine etmede başarılı olduğunu bildirmişlerdir.

Johns ve ark.⁵⁶ her biri periapikal lezyonlu 20 dişten oluşan 3 grup dişe sırası ile; üçlü antibiyotik patı, kalsiyum hidroksiti ve PDT'yi uygulamışlardır. Çalışmalarının sonucunda hem klinik hem de radyografik olarak PDT'nin periapikal lezyon iyileşmesine yardımcı

olduğunu, aynı zamanda diğer gruplara oranla en etkin dezenfeksiyon yönteminin PDT olduğu sonucunu rapor etmişlerdir.

Revaskülarizasyon tedavisinde PDT kullanımı ile ilgili ilk klinik çalışma Johns ve ark.⁵³ tarafından uygulanmıştır. Bu çalışmada 9 yaşındaki hastanın pulpa nekrozu görülen ve kök gelişimini tamamlamamış üst santral kesicilerine, PDT uygulayıp ve doku iskelesi olarak trombositten zengin fibrin kullanarak revaskülarizasyon tedavisi gerçekleştirmişlerdir. On aylık takip sonunda üst santral kesicilerin kök gelişiminin gözlendiğini rapor etmişlerdir. Ancak literatürde bu konu ile ilgili yeterli çalışma bulunmadığından daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

REVASKÜLARİZASYON TEDAVİSİNDE OTOJEN DOKU TRANSFERLERİ

Scaffold (Doku iskelesi): Kök hücre, sinyal molekülleri ve doku iskelesi varlığı revaskülarizasyonun başarısı için 3 önemli etkidir.⁵⁷ Doku iskelesi hücre fonksiyonlarının düzenlemek ve hücrelere mekanik destek vermek için kullanılan 3 boyutlu, geçici yapıdır.^{58,59}

Nekrotik pulpalı dişlerde boş kalan kanal alanı kendi periapikal alanından yeni bir doku üretemez.⁶⁰ Dokular 3 boyutlu yapılardır ve uygun bir doku iskelesi hücre büyümesi ve farklılaşması için gereklidir.⁶¹ Ekstrasellüler matriks moleküllerinin kök hücre farklılaşmasını kontrol ettiği bilinen bir gerçektir. Bu nedenle doku iskelesi, hücre oluşumu ve vaskülarite için rejeneratif tedavilerde bir çerçeve gibi kullanılmaktadır.⁶² Büyüme faktörlerini de içeren uygun bir doku iskelesi selektif bir şekilde bağlanarak hücreleri lokalize eder ve zamanla bozulmaya uğrar.²²

Literatürde kan, trombositten zengin plazma (PRP) ve trombositten zengin fibrin (PRF) gibi otojen materyaller kullanılarak revaskülarizasyon tedavisinin uygulandığı birçok çalışma bulunmaktadır.^{7,24,37,49,51,53,62-69} Gerçekleştirilen bu çalışmalarda PRP ve PRF doku iskelelerinin kullanılması ile revaskülarizasyon tedavilerinde başarı oranının kabul edilebilir düzeyde olduğu bildirilmektedir. Ancak PRP ve PRF doku iskelelerinin revaskülarizasyon tedavilerinde yaygın olarak kullanılabilmesi için uzun süreli klinik takip gerektiren çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kan Pıhtısı: Birçok araştırmacı enfekte immatur dişlerin revaskülarizasyon tedavisinde doku iskelesi gibi davranan stabil kan pıhtısı kullanımını önermektedir.^{24,37,49,51,62,66-69} Kanama kanal aleti ile periapikal

alanın kanatılması ile elde edilmektedir.⁷ Dezenfekte edilmiş kanalda oluşan bu kan pıhtısı yalnızca bir destek gibi davranmayıp, aynı zamanda odontoblast benzeri hücrelerin büyümesini ve farklılaşmasını sağlayan bazı faktörleri de sağlamaktadır.²³ Ayrıca kanama, kök hücre iyileşmesi için gerekli olan anjiogenezise yardım etmektedir.⁵⁷

Ancak kanama randevular arası periapikal koagülasyon nekrozuna neden olan Ca(OH)₂ veya vazokonstriktörlü lokal anestezi kullanımıyla azalabilmektedir. Ayrıca kan pıhtısı içerisindeki büyüme faktörü konsantrasyonunun sınırlı olması revaskülarizasyon tedavisinin başarı oranını düşürebilmektedir.⁵⁷

Trombositten Zengin Plazma: Trombositten zengin plazma (PRP), büyüme faktörlerinden zengin birinci jenerasyon bir otolog trombosit konsantrasyonudur ve rejeneratif endodontik tedavilerin başarısının artırılması için önerilmektedir.^{57,70} PRP; trombosit kaynaklı büyüme faktörü, dönüştürücü büyüme faktörü-β, insülin benzeri büyüme faktörü, epitelyal hücreli büyüme faktörü gibi çeşitli büyüme faktörleri içermektedir. PRP'den bu büyüme faktörlerinin açığa çıkabilmesi için ortama trombin ya da kalsiyum bağlı ürünler (Ca sülfat, Ca fosfat) eklenmesi ya da trombositlerin santrifüj edilmesi gerekmektedir.⁷ Plazma içerisindeki trombosit konsantrasyonu ve buna bağlı büyüme faktörleri ne kadar fazlaysa kök hücre çoğalması, doku iyileşmesi ve rejenerasyonu o kadar iyi olmaktadır.^{71,72} PRP'den salınan büyüme faktörleri hücrelerin mitoz, kemotaksis, farklılaşma ve iyileşmeyi uyarma yeteneğinde önemli bir role sahiptir.⁷² PRP kullanımının; genç hastalardan kan alma zorluğu, özel ekipman ve PRP belirteci gerektirmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır.⁷

PRP, sığır trombinini veya kalsiyum sülfatla aktive edilmektedir,⁷³ ancak sığır trombininin hemoraji, tromboz ve sistemik lupus eritomatozus (SLE) gibi önemli immün reaksiyonlara sebep olduğu bildirilmektedir.⁷⁴ Bu nedenle, son zamanlarda gerçekleştirilen çalışmalarda sığır trombininin olumsuz etkilerinden dolayı PRP'yi aktive etmek için kalsiyum sülfat kullanılmaktadır.⁷³

Torabinejad ve ark.⁷⁵ 11 yaşındaki hastanın ekstrüze olan ve hemen replante edilen ancak pulpal nekroz ve apikal periodontitis gözlenen üst çene ikinci küçük azı dişine % 5,25 NaOCl ile irige ettikten sonra ÜAP uygulamışlardır. Üçüncü haftanın sonunda ÜAP'yi kanaldan uzaklaştırmış ve hastadan aldıkları kandan PRP hazırlamışlardır. Hazırlanan PRP'yi mine-sement sınırına kadar uygulayıp MTA ile kapatmışlardır. Beş buçuk ay sonraki klinik ve radyografik değerlendirmelerde palpasyonda ve perküsyonda hassasiyet gözlenmemiş, periapikal lezyon

iyileşmiş, kök gelişimi ve apeksin kapanması devam etmiştir. Ayrıca soğuk testine ve elektrikli pulpa testine birinci küçük azı dişle benzer pozitif sonuçlar alınmıştır. Jadhav ve ark.⁷ kök gelişimini tamamlamamış devital ve apikal periodontitisli toplam üç hastanın her iki santral kesici dişinde kemomekanik dezenfeksiyon sağladıktan sonra PRP kullanarak veya kullanmadan revaskülarizasyon tedavisi uygulamışlardır. Altıncı ve 12. aylarda yapılan kontrollerde; PRP kullanılan dişlerde apikal iyileşme, apikal kapanma ve dentin duvarında kalınlaşma kullanılmayan dişlere oranla daha belirgin gözlenmiştir. Ayrıca PRP kullanımının kök hücre yaşamı ve farklılaşmasına sebep olan büyüme faktörlerinin sürekli salınımına sebep olduğu da rapor edilmiştir.

Martin ve ark.⁶³ 9 yaşındaki hastanın kök gelişimini tamamlamadan nekroze olan alt çene birinci azı dişinin distal kanalına kan pıhtısı ve PRP, mezyal kanallarına ise yalnız kan pıhtısı ile revaskülarizasyon tedavisi uygulamışlardır. Takiplerde dişin klinik olarak asemptomatik olduğunu ayrıca periapikal lezyonda azalma gözlendiğini bildirmişlerdir. Tedaviden iki yıl sonra kırılma nedeniyle çekim endikasyonu konulan diş histolojik olarak incelenmiş ve incelemeler sonucunda mezyal ve distal kanallarda dentin benzeri mineralize doku varlığı rapor edilmiştir.

Bezgin ve ark.⁷⁶ gerçekleştirdikleri klinik çalışmada 20 adet nekrotik pulpal ve kök gelişimini tamamlamamış tek köklü dişleri ÜAP ile dezenfeksiyonu sağladıktan sonra iki gruba ayırmışlardır. Dişlerin bir kısmında doku iskelesi olarak PRP, diğer kısmında ise kan pıhtısı uygulayıp 18 ay süreyle takip etmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda, revaskülarizasyon tedavisinde PRP'nin başarılı bir doku iskelesi olarak kullanılabileceğini ancak PRP kullanılan dişlerle kan pıhtısı uygulananlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını da bildirmişlerdir.

Trombositten Zengin Fibrin: Dohan ve ark. tarafından 2006 yılında geliştirilen trombositten zengin fibrin (PRF) ikinci jenerasyon bir trombosit konsantrasyonudur.^{77,78} Bu tekniğin en önemli avantajı oldukça basit ve masrafsız olmasıdır. Ayrıca PRP ile kıyaslandığında sığır trombinini veya kalsiyum sülfatla aktive etme işlemleri içermediğinden daha kısa sürede ve kolay uygulanmaktadır.⁷⁹

PRF trombosit, büyüme faktörleri ve iyileşmeyi sağlayan sitokinler içerir.⁸⁰ Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda PRF'nin PDGF ve TGF-β gibi bazı önemli büyüme faktörlerini bir haftadan 28 güne kadar yavaş ve sürekli bir şekilde salınımını sağladığı bildirilmiştir.

Aynı zamanda; PRF yara iyileşmesi için büyüme faktörlerini kendi biyolojik iskelesiyle birlikte salgılamakta ve uygulamadan sonra hızlıca çözünmemektedir.^{78,80,81}

Shivashankar ve ark.⁶⁵ yaptıkları çalışmada; travmaya bağlı apikal periodontitis ve pulpal nekroz görülen kök gelişimini tamamlamamış dokuz yaşındaki hastanın dişine 20 ml % 5,25 NaOCl ve 10 ml % 0,2 CHX ile yıkandıktan sonra ÜAP uygulamışlardır. Üçüncü haftanın sonunda ÜAP'ı kanaldan uzaklaştırıp, PRF doku iskelesi uygulamışlardır. 12 aylık takip sonucunda dişin soğuk ve elektrikli vitalite testine yanıt verdiği; periapikal iyileşme, apikal kapanma, kök dentin duvar kalınlığında artış görüldüğü rapor edilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre; kanal dezenfeksiyonunun etkili uygulandığı durumlarda enfekte immatur dişlerin revitalizasyonu mümkündür ve PRF pulpa dentin kompleksinin rejenerasyonu için ideal biyomateryaldir. Yapılan literatür değerlendirmesinde, sadece bir çalışmada fotodinamik dezenfeksiyon ile PRF'nin kombine kullanımının nekrotik immatur dişlerde tatmin edici kök gelişimine izin verdiği gösterilmiştir.⁵³ Ancak bu konuyla ilgili yeterince çalışma bulunmamaktadır.

DOKU MÜHENDİSLİĞİ

Doku mühendisliği insan hücre, doku ve organlarının normal fonksiyonlarını restore etmek veya yeniden sağlamak için biyolojik dokuları geliştiren, biyoloji ve mühendislik ilkelerini birleştiren multidisipliner bir çalışma alanıdır.⁸² Doku mühendisliği; kök hücreler, doku iskelesi ve büyüme faktörleri gibi 3 temel bileşenden oluşmaktadır.^{83, 84}

Kök Hücreler: Kök hücreler çeşitli özelliklerine göre kategorize edilebilirler. Potansiyellerine göre sınıflandırıldıklarında totipotent, pluripotent ve multipotent olarak üç gruba ayrılırlar.⁸⁵ Totipotent kök hücreler tüm organizmadaki hücelere dönüşebilme yeteneğine sahiptir.⁸⁶ Pluripotent kök hücreler ise tüm organizmayı oluşturmaya da endoderm, mezoderm, ektoderm gibi üç germ yaprağından birine ait olup, o germ yaprağından oluşabilecek tüm hücelere dönüşebilirler. Multipotent kök hücreler ise daha sınırlı sayıda hücreye dönüşebilme kapasitesine sahiptir.⁸⁷

Köken aldığı yere göre sınıflandırıldığında kök hücreler; embriyonik ve adult (postnatal) olarak iki gruba ayrılırlar. Embriyonik kök hücreler pluripotent özelliğe sahiptir ve doku rejenerasyonu için elverişli yapılardır.⁸⁸ Fakat etik ve immünolojik nedenlerden dolayı allojenik kök hücre kullanımı sınırlanmıştır ve daha çok postnatal kök hücreler üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır.⁸⁹ Ancak

postnatal kök hücreler progenitör ve yüksek diferansiyasyon özelliğine sahip değildir. Aynı zamanda bu hücreler kendini replike etme özelliğine de sahip değildir. Postnatal kök hücreler multipotent özellikte olup örnek olarak hematopoetik kök hücre, mezenşimal kök hücre gibi sınıflandırılırlar.⁹⁰

Çalışmalarda dental pulpanın kök hücre kaynağı olarak kullanılan ilk dental doku olduğu ve buradan elde edilen kök hücrelerin (DPSCs) postnatal dental pulpa benzeri kök hücreler olduğu bildirilmiştir.⁹¹ Daha sonra dört dental kökenli mezenşimal kök hücre daha tanımlanmıştır. Bunlar; süt dişlerinden elde edilen kök hücreler (SHED)⁹², periodontal ligament kök hücreleri (PDLSCs)⁹³, dental folikül progenitör kök hücreleri (DFPCs)⁹⁴ ve apikal papilla kaynaklı kök hücrelerdir (SCAP).^{95, 96}

Postnatal dental pulpa kök hücrelerinin odontoblastlara farklılaşabildiği, ayrıca gerçekleştirilen hayvan çalışmalarında, farelere transplantasyondan sonra dentin-pulpa kompleksi oluşturabildiği de görülmüştür.^{91, 97}

Disanakaya ve ark.⁹⁸ 10 aylık köpeklerin küçük azı dişlerinden izole ettikleri kök hücreleri klonojenite, büyüme kapasitesi, mezenşimal kök hücre markırlarının ekspresyonunu osteo/odontojenik, adipojenik ve nörojenik kapasiteleri açısından değerlendirmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda, dental kök hücrelerin odontoblast benzeri hücelere dönüşerek alkalin fosfataz aktivitesini arttırdığını, dentin sialoprotein salgıladığını ve mineralize doku oluşturduğunu göstermişlerdir.

Srisuwan ve ark.⁹⁹ fareler üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, pulpası çıkarılan dişlere farelerden izole ettikleri pulpa hücrelerini, kollajen 1 jeli ve anjiyojenik faktörleri yerleştirip, bu dişlerin bir kısmını kanlanması zengin olan femur içine diğer kısmını ise mevcut dental sokete replante etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda pulpasız dişe dental pulpa kök hücresi ve büyüme faktörü eklemenin doku ve damar oluşumunu arttırdığını ve bu artışın femur içine yerleştirilen dişlerde oranla daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma odontoblastlara dönüşen hücrelerin odontoblast gibi davranıp dentin sialoproteini salgıladığını göstermektedir.

Zhu ve ark.⁶⁴ köpekler üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada kök gelişimi tamamlanmamış 56 adet küçük azı dişinde apikal periodontitis gelişimini indükledikten sonra bu dişleri dört deney grubu (n=40) ve iki kontrol grubuna (n=16) ayırmışlardır. Deney grubundaki dişleri %1,25 NaOCl ile yıkandıktan sonra kanal içi ilaç olarak

ÜAP kullanmışlardır. Daha sonra bu dişleri dört gruba ayırıp, sırası ile kan pıhtısı, dental kök hücre, yalnız PRP, PRP ve dental kök hücre kombinasyonu uygulamışlardır. Çalışmalarının sonucunda kök gelişimini tamamlamamış apikal periodontitisli dişlerde PRP ile birlikte dental kök hücre kombinasyonu tedavisinin vital doku rejenerasyonunu arttırdığı görülmüştür. Daha sonra aynı araştırmacılar¹⁰⁰ bu çalışmadaki dişlerde oluşan yeni dokuları analiz etmek için immunohistokimyasal ve histokimyasal yollarla spesifik markırları saptayarak tanımlamayı hedeflemişlerdir. Periodontal ligament için periostin, odontoblast için dentin sialoprotein ve nestin; kemik doku için kemik sialoprotein ve osteokalsin, aynı zamanda osteoklastik aktivite için de TRAP (tartarat rezistan asit fosfataz) markırlarını kullanmışlardır. Sonuç olarak; periostin pozitif doku, periodontal ligamentten başlayıp kanal iç yüzeyine kadar devam etmiştir. Kanalda mineral adacıkları tespit edilmiştir. Aynı zamanda kanal boşluğunda TRAP, osteokalsin ve kemik sialoprotein de saptanmış olup bunlar kemik dokusunun varlığını işaret etmektedir. Kanal boşluğu iç yüzeyindeki mineralize dokuda TRAP negatif saptanmıştır. Örneklerin hiçbirinde nestin pozitif doku saptanmamıştır. Ancak PDL, dentin tübülleri ve kanal içerisindeki fibröz dokuda dentin sialoprotein saptanmıştır. Çalışmanın sonucunda 4 grup arasında herhangi bir fark olmadığı rapor edilmiştir; aynı zamanda rejeneratif endodontik tedavi sonrası köpeklerin kök kanallarında oluşan dokunun pulpa dokusu olmadığı, sadece periodontal dokunun gözlemlendiği bildirilmiştir.¹⁰⁰

Büyüme Faktörleri: Büyüme faktörleri; hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanan ve hücrelerin büyümesi ve farklılaşması için sinyaller oluşturan protein yapılarıdır.¹⁰¹ Pulpa ve dentinde bulunan ana büyüme faktörleri; kemik morfojenetik büyüme faktörü (BMP),¹⁰² dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β)¹⁰³ ve fibroblastik büyüme faktörüdür (FGF).¹⁰⁴ TGF- β dentin matriksinden odontoblast diferansiasyonu ve proliferasyonu için sinyal üretimini sağlar.¹⁰⁵ BMP ise kalsiyum hidroksitle kıyaslandığında daha yüksek miktarda odontoblastik aktivitenin gerçekleştiği, birçok yeni tübülün ve homojen dentinin olduğu tamiraty uyarır. BMP-2, 4 ve 7 direkt olarak kök hücrelerden odontoblastlara farklılaşmayı dentin formasyonu oluşturmayı sağlar.¹⁰⁶ Rejeneratif endodontik tedaviler; trombositlerde ve dentinde bulunan büyüme faktörlerinden faydalanmayı amaçlamaktadır.^{75,107} Yapılan çalışmalarda; dentinin rejeneratif tedavilerde önemli rol oynayan birçok biyoaktif molekül içerdiği gösterilmiştir.^{107,108}

Büyüme faktörlerinin rejeneratif doku mühendisliğinde önemli rol oynadığı bilinmekle birlikte bu konu hala

araştırma safhasındadır. Ancak bu faktörlerin birçoğunun yarı ömürlerinin kısa olması rejeneratif tedavilerde etkin kullanılabilmesine engel olmaktadır.¹⁰⁶

Gen Terapisi: Gen terapisinde dokuya büyüme faktörü vermek yerine bu faktörü kodlayan gen verilmektedir. Başarılı bir gen terapisi için en önemli faktörlerden biri de, gerekli zamanda yeterli miktarda gen indüksiyonunun sağlanabilmesidir.⁸³ Bu durum istenmeyen toksisite sorunlarını önlemektedir. Dokuya gen göndermenin viral ve non viral yolları vardır.¹⁰⁶ Viral yöntemde hastalık yapıcı etkisi kaybettirilmiş viral genomu istenen büyüme faktör geni entegre ettirilip vücuda verilir ve böylece viral genom insan genomuna entegre olarak istenen gen dokuya yerleştirilmiş olur.¹⁰⁹⁻¹¹¹ Non viral metotlar ise ultrason ve elektroporasyon yöntemidir.⁸⁸ Bu uygulamaların revaskularizasyon tedavilerinde kullanımı üzerine multidisipliner çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

SONUÇ

Revaskularizasyon tedavisinde halen yaygın kullanım alanına sahip olan üçlü antibiyotik pat kullanımının özellikle apikal papilladaki kök hücrelere zararlı etkisinin olması, bakteriyel dirence ve koronal renklenmeye neden olmasından dolayı daha farklı tedavi yöntemlerine gereksinim vardır. Özellikle son zamanlarda revaskularizasyon tedavisinde kullanılmaya başlanan otojen doku transferleri ve kök hücre ile tedavi yönteminde başarılı sonuçlar elde edilmesi, bu tedavi yönteminde umut verici yeni bir yaklaşım olarak görülmektedir. Konu ile ilgili uzun süreli klinik takip gerektiren çalışmalara ihtiyaç vardır. Ancak yeterince çalışma bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Andreasen JO, Ravn JJ. Epidemiology of traumatic dental injuries to primary and permanent teeth in a Danish population sample. *Int J Oral Surg* 1972; 1: 235-239.
2. Abanto J, Tsakos G, Paiva SM, Carvalho TS, Raggio DP, Bonecker M. Impact of dental caries and trauma on quality of life among 5- to 6-year-old children: perceptions of parents and children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2014; 42: 385-394.
3. Gupta K, Tandon S, Prabhu D. Traumatic injuries to the incisors in children of South

- Kanara District. A prevalence study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2002; 20: 107-113.
4. Dean JA AD, McDonald RE. Dentistry for the Child and Adolescent 9th Ed. Mosby, ABD, 2011, 349-350.
5. Shabahang S. Treatment options: apexogenesis and apexification. *J Endod* 2013; 39: S26-29.
6. Mendoza AM, Reina ES, Garcia-Godoy F. Evolution of apical formation on immature necrotic permanent teeth. *Am J Dent* 2010; 23: 269-274.
7. Jadhav GR, Shah N, Logani A. Comparative outcome of revascularization in bilateral, non-vital, immature maxillary anterior teeth supplemented with or without platelet rich plasma: A case series. *J Conserv Dent* 2013; 16: 568-572.
8. Rafter M. Apexification: a review. *Dent Traumatol* 2005; 21: 1-8.
9. Chair Gerald N, Glickman MA, Levin LG, Fouad AF, Johnson WT. American Association of Endodontists' Glossary of Endodontic Terms. 7th Ed. Chicago, 2003, 205.
10. 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.
11. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dent Traumatol* 2002; 18: 134-137.
12. Rosenberg B, Murray PE, Namerow K. The effect of calcium hydroxide root filling on dentin fracture strength. *Dent Traumatol* 2007; 23: 26-29.
13. Kleier DJ, Barr ES. A study of endodontically apexified teeth. *Endod Dent Traumatol* 1991; 7: 112-117.
14. Mohammadi Z, Dummer PM. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J* 2011; 44: 697-730.
15. Giuliani V, Baccetti T, Pace R, Pagavino G. The use of MTA in teeth with necrotic pulps and open apices. *Dent Traumatol* 2002; 18: 217-221.
16. Parirokh M, Jalali S, Haghdoost AA, Abbott PV. Comparison of the effect of various irrigants on apically extruded debris after root canal preparation. *J Endod* 2012; 38: 196-199.
17. Estrela C, Bammann LL, Pimenta FC, Pecora JD. Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes. *Int Endod J* 2001; 34: 341-345.
18. 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.
19. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Cytotoxicity of four root end filling materials. *J Endod* 1995; 21: 489-492.
20. Koh ET, McDonald F, Pitt Ford TR, Torabinejad M. Cellular response to Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod* 1998; 24: 543-547.
21. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* 1995; 21: 349-353.
22. Neha K, Kansal R, Garg P, Joshi R, Garg D, Grover HS. Management of immature teeth by dentin-pulp regeneration: a recent approach. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011; 16: 997-1004.
23. Wigler R, Kaufman AY, Lin S, Steinbock N, Hazan-Molina H, Torneck CD. Revascularization: a treatment for permanent teeth with necrotic pulp and incomplete root development. *J Endod* 2013; 39: 319-326.
24. Thibodeau B, Trope M. Pulp revascularization of a necrotic infected immature permanent tooth: case report and review of the literature. *Pediatr Dent* 2007; 29: 47-50.
25. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J* 1996; 29: 125-130.
26. Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J* 1996; 29: 118-124.
27. Windley W, 3rd, Teixeira F, Levin L, Sigurdsson A, Trope M. Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. *J Endod* 2005; 31: 439-443.
28. Er K, Kustarci A, Ozan U, Tasdemir T. Nonsurgical endodontic treatment of dens invaginatus in a mandibular premolar with large periradicular lesion: a case report. *J Endod* 2007; 33: 322-324.
29. Taneja S, Kumari M, Parkash H. Nonsurgical healing of large periradicular lesions using a

- triple antibiotic paste: A case series. *Contemp Clin Dent* 2010; 1: 31-35.
30. Gomes-Filho JE, Duarte PC, de Oliveira CB, Watanabe S, Lodi CS, Cintra LT, et al. Tissue reaction to a triantibiotic paste used for endodontic tissue self-regeneration of nonvital immature permanent teeth. *J Endod* 2012; 38: 91-94.
 31. Ruparel NB, Teixeira FB, Ferraz CC, Diogenes A. Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. *J Endod* 2012; 38: 1372-1375.
 32. Tanase S, Tsuchiya H, Yao J, Ohmoto S, Takagi N, Yoshida S. Reversed-phase ion-pair chromatographic analysis of tetracycline antibiotics. Application to discolored teeth. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1998; 706: 279-285.
 33. Kim JH, Kim Y, Shin SJ, Park JW, Jung IY. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *J Endod* 2010; 36: 1086-1091.
 34. Sato T, Hoshino E, Uematsu H, Noda T. In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs on bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 172-176.
 35. Akcay M, Arslan H, Topcuoglu HS, Tuncay O. Effect of calcium hydroxide and double and triple antibiotic pastes on the bond strength of epoxy resin-based sealer to root canal dentin. *J Endod* 2014; 40: 1663-1667.
 36. Thomson A, Kahler B. Regenerative endodontics--biologically-based treatment for immature permanent teeth: a case report and review of the literature. *Aust Dent J* 2010; 55: 446-452.
 37. Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N. Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspids using a modified novel technique to eliminate potential coronal discoloration: a case report. *Int Endod J* 2009; 42: 84-92.
 38. Nagata JY, Gomes BP, Rocha Lima TF, Murakami LS, de Faria DE, Campos GR, et al. Traumatized immature teeth treated with 2 protocols of pulp revascularization. *J Endod* 2014; 40: 606-612.
 39. Soares Ade J, Lins FF, Nagata JY, Gomes BP, Zaia AA, Ferraz CC, et al. Pulp revascularization after root canal decontamination with calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel. *J Endod* 2013; 39: 417-420.
 40. Lana PE, Scelza MF, Silva LE, Mattos-Guaraldi AL, Hirata Junior R. Antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes on *Enterococcus faecalis* cultivated in root canal systems. *Braz Dent J* 2009; 20: 32-36.
 41. Behnen MJ, West LA, Liewehr FR, Buxton TB, McPherson JC, 3rd. Antimicrobial activity of several calcium hydroxide preparations in root canal dentin. *J Endod* 2001; 27: 765-767.
 42. Chueh LH, Ho YC, Kuo TC, Lai WH, Chen YH, Chiang CP. Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent teeth. *J Endod* 2009; 35: 160-164.
 43. Graham L, Cooper PR, Cassidy N, Nor JE, Sloan AJ, Smith AJ. The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. *Biomaterials* 2006; 27: 2865-2873.
 44. Gomes-Filho JE, Aurelio KG, Costa MM, Bernabe PF. Comparison of the biocompatibility of different root canal irrigants. *J Appl Oral Sci* 2008; 16: 137-144.
 45. Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LA, Anibal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *Int Endod J* 2002; 35: 735-739.
 46. Gomes BP, Montagner F, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Polymerase chain reaction of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in primary endodontic infections. *J Endod* 2007; 33: 1049-1052.
 47. Gomes BP, Jacinto RC, Pinheiro ET, Sousa EL, Zaia AA, Ferraz CC, et al. Molecular analysis of *Filifactor alocis*, *Tannerella forsythia*, and *treponema denticola* associated with primary endodontic infections and failed endodontic treatment. *J Endod* 2006; 32: 937-940.
 48. Bose R, Nummikoski P, Hargreaves K. A retrospective evaluation of radiographic outcomes in immature teeth with necrotic root canal systems treated with regenerative endodontic procedures. *J Endod* 2009; 35: 1343-1349.
 49. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod* 2004; 30: 196-200.
 50. Iwaya S, Ikawa M, Kubota M. Revascularization of an immature permanent tooth with

- periradicular abscess after luxation. *Dent Traumatol* 2011; 27: 55-58.
51. Cehreli ZC, Ishitiren B, Sara S, Erbas G. Regenerative endodontic treatment (revascularization) of immature necrotic molars medicated with calcium hydroxide: a case series. *J Endod* 2011; 37: 1327-1330.
 52. Williams JA, Pearson GJ, Colles MJ. Antibacterial action of photoactivated disinfection {PAD} used on endodontic bacteria in planktonic suspension and in artificial and human root canals. *J Dent* 2006; 34: 363-371.
 53. Johns DA, Shivashankar VY, Krishnamma S, Johns M. Use of photoactivated disinfection and platelet-rich fibrin in regenerative Endodontics. *J Conserv Dent* 2014; 17: 487-490.
 54. Lee MT, Bird PS, Walsh LJ. Photo-activated disinfection of the root canal: a new role for lasers in endodontics. *Aust Endod J* 2004; 30: 93-98.
 55. Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, Pearson GJ. Microbiological evaluation of photo-activated disinfection in endodontics (an in vivo study). *Br Dent J* 2006; 200: 337-341, discussion 329.
 56. Johns DA, Varughese JM, Thomas K, Abraham A, James EP, Maroli RK. Clinical and radiographical evaluation of the healing of large periapical lesions using triple antibiotic paste, photo activated disinfection and calcium hydroxide when used as root canal disinfectant. *J Clin Exp Dent* 2014; 6: e230-236.
 57. Hargreaves KM, Geisler T, Henry M, Wang Y. Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? *Pediatr Dent* 2008; 30: 253-260.
 58. Bottino MC, Thomas V, Schmidt G, Vohra YK, Chu TM, Kowolik MJ, et al. Recent advances in the development of GTR/GBR membranes for periodontal regeneration--a materials perspective. *Dent Mater* 2012; 28: 703-721.
 59. Albuquerque MT, Valera MC, Nakashima M, Nor JE, Bottino MC. Tissue-engineering-based strategies for regenerative endodontics. *J Dent Res* 2014; 93: 1222-1231.
 60. Silva RV, Silveira FF, Nunes E. Apexification in non-vital teeth with immature roots: report of two cases. *Iran Endod J* 2015; 10: 79-81.
 61. Narang I, Mittal N, Mishra N. A comparative evaluation of the blood clot, platelet-rich plasma, and platelet-rich fibrin in regeneration of necrotic immature permanent teeth: A clinical study. *Contemp Clin Dent* 2015; 6: 63-68.
 62. Aggarwal V, Miglani S, Singla M. Conventional apexification and revascularization induced maturogenesis of two non-vital, immature teeth in same patient: 24 months follow up of a case. *J Conserv Dent* 2012; 15: 68-72.
 63. Martin G, Ricucci D, Gibbs JL, Lin LM. Histological findings of revascularized/revitalized immature permanent molar with apical periodontitis using platelet-rich plasma. *J Endod* 2013; 39: 138-144.
 64. 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.
 65. Shivashankar VY, Johns DA, Vidyanath S, Kumar MR. Platelet Rich Fibrin in the revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex. *J Conserv Dent* 2012; 15: 395-398.
 66. Jung IY, Lee SJ, Hargreaves KM. Biologically based treatment of immature permanent teeth with pulpal necrosis: a case series. *J Endod* 2008; 34: 876-887.
 67. Ostby BN. The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. *Acta Odontol Scand* 1961; 19: 324-353.
 68. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod* 2011; 37: 133-138.
 69. 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.
 70. Ding RY, Cheung GS, Chen J, Yin XZ, Wang QQ, Zhang CF. Pulp revascularization of immature teeth with apical periodontitis: a clinical study. *J Endod* 2009; 35: 745-749.
 71. Alsousou J, Ali A, Willett K, Harrison P. The role of platelet-rich plasma in tissue regeneration. *Platelets* 2013; 24: 173-182.
 72. Alsousou J, Thompson M, Hulley P, Noble A, Willett K. The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic

- surgery: a review of the literature. *J Bone Joint Surg Br* 2009; 91: 987-996.
73. Intini G, Andreana S, Intini FE, Buhite RJ, Bobek LA. Calcium sulfate and platelet-rich plasma make a novel osteoinductive biomaterial for bone regeneration. *J Transl Med* 2007; 5: 13.
 74. Cronstein BN. Bovine thrombin and systemic autoimmunity. *Am J Pathol* 2003; 162: 1389; 1389-1390.
 75. 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.
 76. Bezgin T, Yilmaz AD, Celik BN, Kolsuz ME, Sonmez H. Efficacy of Platelet-rich Plasma as a Scaffold in Regenerative Endodontic Treatment. *Journal of Endodontics* 2015; 41: 36-44.
 77. Hotwani K, Sharma K. Platelet rich fibrin - a novel acumen into regenerative endodontic therapy. *Restor Dent Endod* 2014; 39: 1-6.
 78. 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: 37-44.
 79. Sunitha Raja V, Munirathnam Naidu E. Platelet-rich fibrin: evolution of a second-generation platelet concentrate. *Indian J Dent Res* 2008; 19: 42-46.
 80. Huang FM, Yang SF, Zhao JH, Chang YC. Platelet-rich fibrin increases proliferation and differentiation of human dental pulp cells. *J Endod* 2010; 36: 1628-1632.
 81. O'Connell SM. Safety issues associated with platelet-rich fibrin method. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103: 587; 587-593.
 82. Sedgley CM, Botero TM. Dental stem cells and their sources. *Dent Clin North Am* 2012; 56: 549-561.
 83. Nakashima M. Tissue engineering in endodontics. *Aust Endod J* 2005; 31: 111-113.
 84. Nakashima M, Akamine A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *J Endod* 2005; 31: 711-718.
 85. Robey PG. Stem cells near the century mark. *J Clin Invest* 2000; 105: 1489-1491.
 86. Morgani SM, Brickman JM. The molecular underpinnings of totipotency. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2014; 369.
 87. Ranganathan K, Lakshminarayanan V. Stem cells of the dental pulp. *Indian J Dent Res* 2012; 23: 558.
 88. Heller R, Heller LC. Gene electrotransfer clinical trials. *Adv Genet* 2015; 89: 235-262.
 89. Kim RH, Mehrazarin S, Kang MK. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells for oral and systemic diseases. *Dent Clin North Am* 2012; 56: 651-675.
 90. Antoniou M. Embryonic stem cell research. The case against. *Nat Med* 2001; 7: 397-399.
 91. 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.
 92. 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 USA* 2003; 100: 5807-5812.
 93. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004; 364: 149-155.
 94. Morsczeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kuhn U, Mohl C, et al. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol* 2005; 24: 155-165.
 95. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One* 2006; 1: 79.
 96. 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. *J Endod* 2008; 34: 166-171.
 97. 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.
 98. Dissanayaka WL, Zhu X, Zhang C, Jin L. Characterization of dental pulp stem cells isolated from canine premolars. *J Endod* 2011; 37: 1074-1080.

99. 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.
100. Zhu X, Wang Y, Liu Y, Huang GT, Zhang C. Immunohistochemical and histochemical analysis of newly formed tissues in root canal space transplanted with dental pulp stem cells plus platelet-rich plasma. *J Endod* 2014; 40: 1573-1578.
101. 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.
102. Nakashima M. Bone morphogenetic proteins in dentin regeneration for potential use in endodontic therapy. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 369-376.
103. Chan CP, Lan WH, Chang MC, Chen YJ, Lan WC, Chang HH, et al. Effects of TGF-beta s on the growth, collagen synthesis and collagen lattice contraction of human dental pulp fibroblasts in vitro. *Arch Oral Biol* 2005; 50: 469-479.
104. Ishimatsu H, Kitamura C, Morotomi T, Tabata Y, Nishihara T, Chen KK, et al. Formation of dentinal bridge on surface of regenerated dental pulp in dentin defects by controlled release of fibroblast growth factor-2 from gelatin hydrogels. *J Endod* 2009; 35: 858-865.
105. Smith AJ, Matthews JB, Hall RC. Transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) in dentine matrix. Ligand activation and receptor expression. *Eur J Oral Sci* 1998; 106: 179-184.
106. Bansal R, Bansal R. Regenerative endodontics: a state of the art. *Indian J Dent Res* 2011; 22: 122-131.
107. Smith AJ, Scheven BA, Takahashi Y, Ferracane JL, Shelton RM, Cooper PR. Dentine as a bioactive extracellular matrix. *Arch Oral Biol* 2012; 57: 109-121.
108. Sun HH, Jin T, Yu Q, Chen FM. Biological approaches toward dental pulp regeneration by tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med* 2011; 5: 1-16.
109. Rutherford RB. BMP-7 gene transfer to inflamed ferret dental pulps. *Eur J Oral Sci* 2001; 109: 422-424.
110. Yang X, van der Kraan PM, van den Dolder J, Walboomers XF, Bian Z, Fan M, et al. STRO-1 selected rat dental pulp stem cells transfected with adenoviral-mediated human bone morphogenetic protein 2 gene show enhanced odontogenic differentiation. *Tissue Eng* 2007; 13: 2803-2812.
111. Zhang Y, Shi B, Li C, Wang Y, Chen Y, Zhang W, 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.

Yazışma Adresi:

Dr. Bilge Gülsüm Nur

Serbest Diş Hekimi

E-Posta: dtbilgenur@hotmail.com