

Rejeneratif Endodontik Tedavide Biyomalzeme Seçimi ve Doku Mühendisliği Uygulamaları

Özgül Cartı Dörterler¹, Fatma Ayhan^{2*}

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı, Muğla, Türkiye. (ORCID: 0000-0002-8123-7629)
ozgulcarti@hotmail.com

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, Biyokimya& Biyomalzemeler Araştırma Grubu (BIOMATREG), Muğla, Türkiye (ORCID: 0000-0003-2220-4496), fayhan@mu.edu.tr

(İlk Geliş Tarihi 17 Aralık 2020 ve Kabul Tarihi 26 Şubat 2021)

(DOI: 10.31590/ejosat.842306)

ATIF/REFERENCE: Özgül Cartı Dörterler, Fatma Ayhan (2021). Rejeneratif Endodontik Tedavide Biyomalzeme Seçimi Ve Doku Mühendisliği Uygulamaları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (23), 31-42.

Öz

Dental pulpa mine, dentin, sement gibi yüksek oranda mineralize dokularla çevrili ve dişin homeostazını sağlayan yumuşak bir bağ dokusudur. Pulpa dokusu, odontoblastik hücrelerin anatomik düzeni ve postmitotik yapısı nedeniyle kısıtlı bir rejenerasyon yeteneğine sahip özelleşmiş bir mineralize dokudur. Diş çürüğü veya enflamasyon nedeniyle çok hızlı şekilde nekrotik hale gelip, endodontik tedaviye gereksinim duyabilir. Klasik endodontik tedavi enfekte pulpa dokusu ve kök dentininin uzaklaştırılıp dezenfekte edilen kanal boşluğunun hermetik sızdırmazlığı sağlayacak şekilde bioinert bir malzeme ile doldurulması esasına dayanır. Kök oluşumunu tamamlamamış immatur ve nekrotik pulpalı dişlerde ise Ca(OH)₂ ve MTA (Mineral Trioksit Agregat) kullanılarak apikal bir bariyer oluşturulacak şekilde tedavi uygulanmaktadır. Bu yöntemlerle tedavi edilen dişte kök uzunluğunda ve kalınlığında artış olmamaktadır. Bu nedenle bu dişler ömür boyu devital ve zayıf bir diş olarak kalmaktadırlar. Endodontik tedavide en çok arzu edilen devital ve nekrotik pulpanın sağlıklı pulpa dokusu ile yer değiştirmesidir. Rejeneratif endodontik tedavi klasik endodontik tedaviye bir alternatiftir. Rejeneratif endodontik tedavi "dentin ve kök yapılarının yanı sıra pulpa-dentin kompleksinin hücreleri de dahil olmak üzere hasarlı diş yapılarını tedavi etmek için tasarlanmış biyolojik tabanlı prosedürler" olarak tanımlanır. Biomateriyal bilimi ve doku mühendisliği teknolojisindeki son gelişmeler rejeneratif endodontik tedavi yönteminin gelişmesini teşvik etmiştir. Doku mühendisliğinin temelini oluşturan kök hücre, doku iskelesi ve büyüme faktörleri ile rejeneratif endodontik tedavi alanında çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır. Şu anda önerilmekte olan pulpa rejenerasyonu teknikleri henüz geliştirme aşamasındadır. Bu derleme de, güncel rejeneratif endodontide kullanılan klasik doku mühendisliği üçlüsü olarak da adlandırılan farklı kök hücre, büyüme faktörleri ve doku iskeleri ile ilgili çalışmalar incelenmiştir. Ayrıca rejeneratif endodontik uygulamalar için geliştirilen organoidler ve çip üstü organlar ile tedavi yaklaşımları da sunulmuştur. Rejenerasyonun kanserle olası bağlantısına yer verilmiştir. Son olarak rutin klinik uygulamalar için geliştirilen tedavi prosedürünün aşamaları özetlenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Dental Pulpa, Rejeneratif Endodonti, Biyomalzeme, Doku Mühendisliği.

Biomaterial Selection and Tissue Engineering Applications in Regenerative Endodontic Treatment

Abstract

Dental pulp is a soft connective tissue that is surrounded by highly mineralized tissues such as enamel, dentin, cementum and provides homeostasis of the tooth. Pulp tissue is a specialized mineralized tissue with a limited regeneration ability due to the anatomical arrangement and postmitotic structure of odontoblastic cells. Classical endodontic treatment is based on removing the infected pulp tissue and root dentin and filling the disinfected canal cavity with a bioinert material to ensure hermetically sealed. It may quickly become necrotic due to tooth decay or inflammation and may require endodontic treatment. In immature that have not completed root formation and necrotic pulp teeth, an apical barrier is formed by using Ca(OH)₂ and MTA (Mineral Trioxide Aggregate). There is no increase in root length and thickness in the tooth treated with these methods. For this reason, these teeth remain devital and weak teeth for life. The most desired in endodontic treatment is the replacement of devital and necrotic pulp with healthy pulp tissue. Regenerative endodontic therapy is an alternative to classical endodontic therapy. Regenerative endodontic therapy is defined as "bio-based

* Sorumlu Yazar: fayhan@mu.edu.tr

procedures designed to treat damaged tooth structures, including cells of the pulp-dentin complex, as well as dentin and root structures. "Recent advances in biomaterial science and tissue engineering technology have encouraged the development of regenerative endodontic treatment method. Numerous studies are carried out in the field of regenerative endodontic treatment with stem cells, tissue scaffold and growth factors, which are the basis of tissue engineering. Pulp regeneration techniques that are currently proposed are still under development. In this review, studies on different stem cells, growth factors and tissue scaffolds used as the classical tissue engineering trio used in current regenerative endodontics are reviewed and the stages of the treatment procedure developed for routine clinical applications are summarized. In addition, organoids and organ-on-a-chip treatment approaches developed for regenerative endodontic applications were also presented. The relationship between regeneration and cancer was given. Finally, the stages of the treatment procedure developed for routine clinical applications were included.

Keywords: Dental Pulp, Regenerative Endodontics, Biomaterials, Tissue Engineering.

1. Giriş

Rejeneratif endodonti, "dentin ve kök yapılarının yanı sıra pulpa-dentin kompleksinin hücreleri de dahil olmak üzere hasarlı diş yapılarını tedavi etmek için tasarlanmış biyolojik tabanlı prosedürler" olarak tanımlanır (Murray, Garcia-Godoy, & Hargreaves, 2007). Bu tanıma dayanarak, rejeneratif endodontik tedavi (RET) ile, immatür dişlerin nekrotik pulpa ile enfeksiyon travma veya gelişimsel anomaliden zarar gören pulpa-dentin kompleksini yenilemesinin amaçlandığı söylenebilir.

Nekrotik pulpalı / apikal periodontitisli immatur kalıcı dişler, geleneksel olarak apikal sert doku bariyeri oluşumunu indüklemek için kalsiyum hidroksit kullanılan apeksifikasyon prosedürleriyle veya kök kanal dolgusundan önce apikal bölgenin MTA(Mineral Trioksit Agregat) ile kapatılması ile tedavi edilmektedir (Heithersay, 1975; Rafter, 2005).

Kalsiyum hidroksit kullanılarak yapılan tedavilerde her ne kadar yüksek başarı oranı (%95) bildirilse de kalsifik bariyerin oluşması için uzun bir süre geçmesinin gerekir (3-24ay). Kalsiyum hidroksit uygulamasının belirli dönemlerde yenilenmesinin gerekmesi, uzun süreli kalsiyum hidroksit uygulamasının dentinin mekanik özellikleri üzerinde olumsuz etkileyip kök kırığı riskini artırması gibi olumsuz özellikleri de bulunmaktadır (Andreasen, Farik, & Munksgaard, 2002; Frank, 1966; Kerkis vd., 2006; Rosenberg, Murray, & Namerow, 2007; Webber, 1984). Apikal bölgeye MTA uygulaması tedavi süresini kısaltabilir fakat kanal boşluğundaki hasarlı dokunun canlılığını geri kazandırma ve nekrotik pulpalı olgunlaşmamış kalıcı dişlerin kök olgunlaşmasını (kök kanal duvarlarının kalınlaşması ve/veya apikal tıkanma) destekleme potansiyeli yoktur (S. Kim, Malek, Sigurdsson, Lin, & Kahler, 2018).

Rejeneratif endodontik tedavi (RET) klasik endodontik tedaviye bir alternatiftir (Galler vd., 2016). Çürük veya travma nedeniyle hasar görmüş nekrotik immatür kalıcı dişlerin pulpa-dentin kompleksinin rejenerasyonu ile hem dentin duvarlarının kalınlığının artırılıp hem de kök uzunluğu artırılarak kök gelişiminin sağlanıp, vitalitesinin geri kazandırılmasını amaçlayan rejeneratif endodontik tedavi doku mühendisliği konseptine dayanmaktadır (Chueh & Huang, 2006; S. Kim vd., 2018).

Rejeneratif endodonti tedavileri ve sonuçları geleneksel endodontik tedaviden çok farklıdır; bu nedenle son yıllarda endodonti alanında büyük ilgi görmüştür. Nygaard-Ostby (1961) ve Nygaard-Ostby & Hjortdal (1971) rejeneratif endodontik çalışmalara öncülük etmiştir (NYGAARD- ÖSTBY & HJORTDAL, 1971; Östby, 1961). "Revaskülarizasyon" terimi ilk olarak Iwaya ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (Iwaya, Ikawa, & Kubota, 2001). Daha sonra kanal boşluğunda rejenere olan dokular sadece kan damarları değil aynı zamanda sert ve yumuşak dokular olduğu için revaskülarizasyon yerine

revitalizasyon daha uygun bir terim olarak önerilmiştir (G. T.-J. Huang & Lin, 2008). Endodontik literatürde revaskülarizasyon, revitalizasyon ve rejeneratif endodonti eş anlamlı olarak ve birbirinin yerine kullanılmaktadır.

2. Dental Pulpa Rejenerasyonunda Doku Mühendisliği Uygulamaları

Dental pulpa rejenerasyonu için klasik doku mühendisliği kavramı, üç temel faktöre dayanmaktadır: hücreler, biyoaktif moleküller ve doku iskeleleri (Discher, Mooney, & Zandstra, 2009; Langer & Vacanti, 1993). Doku iskeleleri, in vivo koşulları taklit ederek 3 boyutlu olarak dokunun kimyasal stabilitesini ve mekanik gücünü sağlar (Gathani & Raghavendra, 2016; G.T. Huang, 2009). Kök hücreler, yaralanmalardan sonra normal doku iyileşmesinden ve yenilenmesinden sorumludur (van der Kooy & Weiss, 2000).

Büyüme faktörleri, hücre çoğalması ve farklılaşması, hücre dışı matris (ECM) salgılanması ve mineralizasyonu gibi kök hücre faaliyetlerini kontrol ederler (Rosa, Della Bona, Cavalcanti, & Nör, 2012). Her bir komponentin pulpa dokusu rejenerasyonu üzerindeki etkisi farklıdır, ancak nihai sonuç için eşit derecede önemlidir (J. Yang, Yuan, & Chen, 2016).

2.1. Kök Hücreler

Rejeneratif doku mühendisliği teknikleri, in vitro hücre sınıflandırmasını ve seçilen kök hücrelerin genişletilmesini içerir. Bu hücreler alıcının kendisinden (otolog) veya bir donörden (allojenik kökenli) olabilir. Otolog greftler ile optimum uyumluluk elde edilir, ancak yeterli miktarda hücre alımını gerektirir. Bu nedenle dental pulpa mühendisliği için gerekli olan kök hücrelerin alternatif allojenik kaynaklardan alınması düşünülmüştür (Orti vd., 2018). Rejeneratif tıpta hücre tedavisi için genellikle dört ana kök hücre kaynağı tanımlanır: yetişkin mezenkimal kök hücreler (MSC), embriyonik kök hücreler (ESC'ler), umbilikal korddan köken alan neonatal kök hücreler ve indüklenmiş pluripotent kök hücreler (iPSC'ler) (Orti vd., 2018).

2.1.1. Yetişkin mezenkimal kök hücreler

Dental pulpada progenitör hücrelerin varlığı yıllar önce tanımlanmıştır. Bu hücreler yaralanma durumlarında proliferasyon olup diferansiye olarak odontoblast hücrelerine dönüşebilirler. Dental kök hücreler, uluslararası toplum tarafından MSC için verilen (geniş) tanıma uydukları için, o gruba dahil edilmektedirler (Dominici vd., 2006). MSC kökenli hücelere karşılık gelen birçok hücre yüzeyi markörü dental kök hücreleri tanımlamak için de kullanılmıştır. Dental kök hücre ve MSC kültürleri, kültürdeki popülasyonlardan herhangi bir hücre tipinin tanımlanmasına izin veren seçici belirteçler olmaksızın ayırt edilemez (Pagella, Neto, Lamghari, & Mitsiadis, 2015). Diş oluşumuna katılan dental kök hücreler göz önüne alındığında, beş çeşit kök hücre tanımlanmıştır: dental pulpa kök hücreleri

(DPSC), insan eksfoliyeye süt dişlerinden köken alan kök hücreler(SHED), apikal papilladan köken alan kök hücreler (SCAP), periodontal ligament kökenli kök hücreler (PDLSC) ve dental folikülden köken alan kök hücreler (DFSC). DPSC ilk izole edilen ve halen daha en sık kullanılan kök hücre kaynağıdır (Stan Gronthos, Mankani, Brahim, Robey, & Shi, 2000). SHED, DPSC ile aynı prosedür kullanılarak, süt dişlerinden izole edilen kök hücrelerdir ve yüksek oranda proliferasyon yeteneğine sahiptirler (Miura vd., 2003). SCAP, gelişmekte olan dişlerin kök ucundan elde edilir ve oldukça yüksek oranda proliferasyon, migrasyon ve rejeneratif potansiyel sergilemektedirler (Sonoyama vd., 2008). PDLSC'ler periodontal bölgeden izole edilir ve sementum ve periodontal ligament dokularının oluşumunu sağlayarak periodonsiyumun rejenerasyonuna katkıda bulunur (Seo vd., 2004). DFSC, gelişmekte olan dişlerden elde edilir ve periodontal ligaman, alveolar kemik ve sement oluşumunu sağlar (Yokoı vd., 2007). Dental kök hücreler in vitro koşullarda pulpa-dentin kompleksini oluşturabilir (G. T.-J. Huang & Lin, 2008). Bu nedenle, diştten elde edilen kök hücreler, özellikle DPSC, SHED ve SCAP dental pulpa ve dentin rejenerasyonu için en açık ve uygun hücre kaynaklarını temsil eder, çünkü pulpa dokusundan veya pulpa dokusunun öncüsünden türetilirler. DPSC, SHED ve SCAP'nin in vivo olarak hayvan modellerine transplante edildiğinde pulpa-dentin kompleksi oluşturduğu gösterilmiştir (S Gronthos vd., 2002; G.-J. Huang, Gronthos, & Shi, 2009; G. T.-J. Huang vd., 2010; Sonoyama vd., 2006). Klinik uygulama için potansiyel kullanımları, otolog kaynaklardan veya allojenik biyobankalardan sıkı üretim süreçlerinden geçmelidir (Collart-Dutilleul, Chaubron, De Vos, & Cuisinier, 2015; Ducret vd., 2015). Diğer MSC kaynakları da diş pulpasını yenileme yetenekleri açısından incelenmiştir. Bunlar arasında, kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücre (BMSC) ve yağ dokusu kökenli kök hücre, pulpa rejenerasyonu için potansiyel alternatif hücre kaynakları olarak sunulmuştur (Ishizaka, Iohara, Murakami, Fukuta, & Nakashima, 2012). Bununla birlikte, BMSC gibi dental kaynaklı olmayan MSC'nin odontoblastlara farklılaşp dentin-pulpa kompleksini yeniden oluşturup oluşturmayacağı tartışmalıdır (Hu vd., 2006). Dental kökenli olmayan MSC, uygun bir ortam oluşturulup yönlendirildiğinde dentin-pulpa hücrelerinin kaynağı olabilir, ancak pulpa-dentin kompleksini yeniden oluşturmak için kullanımları DPSC, SCAP veya SHED kullanımına göre daha az tercih edilir görünmektedir (Orti vd., 2018).

2.1.2. Embriyonik kök hücreler

ESC'ler, önceden implante edilmiş embriyolarda, gelişimin ilk 2 haftasından önce iç hücre kütesinden elde edilen pluripotent kök hücrelerdir. Rat veya farelerden elde edilen ESC'ler araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak klinik uygulamalar için ESC'lerin insan kaynaklı olması gerekir, bu durumlarda etik sorunlar ile karşılaşmaktadır. İnsan ESC'si ekstra embriyolardan (in vitro fertilizasyon) elde edilir ve farklılaşmamış durumda iken proliferasyon olabilirler. Yüksek diferansiyasyon kabiliyetleri, biyomedikal uygulamalar ve rejeneratif tıp için heyecan verici beklentiler doğurmuştur (Murry & Keller, 2008). Embriyonik kökenli kök hücrelerin, hücre tedavisi ve doku mühendisliği konusundaki büyük kapasiteleri olmasına rağmen, insan embriyolarının zarar görmesine neden olduğu için hassas bir etik tartışma yaratmaktadır. Şimdiye kadar, bu hücreler sadece deneysel sonuçların erken bir aşamasında dental uygulamalar için ve çoğunlukla pluripotent kök hücrelerin bir modeli olarak kullanılmıştır (Hiyama vd., 2013).

2.1.3. Umbilikal kord dan köken alan neonatal kök hücreler

Göbek kordonu ile oluşan neonatal dokular, noninvaziv tekniklerle doğumdan hemen sonra tedavi edilebilir. Neonatal kök hücreler, kordon kanından ve kan damarlarını çevreleyen mezenkimal matriksten elde edilebilir (Forraz & McGuckin, 2011). Kordon kanı hematopoietik kök hücrelerin geri kazanılmasına izin verirken önemli miktarda MSC içerir. Göbek kordonu tıbbi bir atık olarak kabul edilebileceğinden, gelecek vaat eden ve invazif olmayan bir MSC kaynağıdır. Dahası, birkaç çalışma göbek kordonundan MSC'nin olgunlaşmış MSC'den daha primitif, proliferatif ve immünosupresif olduğunu bildirmiştir (El Omar vd., 2014). Bu spesifik kök hücreler, odontoblast benzeri hücrelere farklılaşma kapasiteleri nedeniyle in vitro olarak değerlendirilmiştir (Y. Chen vd., 2015). Bununla birlikte, şimdiye kadar, endodonti ve pulpa rejenerasyonundaki gelişmiş in vivo / klinik uygulamalar için düşünülmemişlerdir.

2.1.4. İndüklenmiş pluripotent kök hücreler

iPSC'ler, Oct3 / 4, Sox2, c-Myc ve Klf4 transkripsiyon faktör genlerinin retroviral tanıtımı kullanılarak farklılaştırılmış hücrelerin yeniden programlanmasıyla (farklılaştırma) üretilir (Takahashi & Yamanaka, 2006). Bu iPSC'ler, çoğalma ve farklılaşma kapasiteleri bakımından ESC'lere benzerler (Okita, Ichisaka, & Yamanaka, 2007). Kapsamlı bir şekilde çoğalırlar ve neredeyse istenen her bir hücre tipine farklılaşarak insanlarda kullanılmak için sınırsız bir ikame hücre kaynağı sağlarlar. Bazı deneylerde iPCS kullanılarak, uygun koşullarda odontoblast benzeri hücrelerin farklılaşması sağlanıp ve diş germ benzeri yapılar oluşturmak üzerine çalışılmıştır (Hiyama vd., 2013; Liu, Li, & Xu, 2016). İPSC'nin dental epitel ile karşılıklı etkileşim yolu veya kemik morfogenetik proteini (BMP) -4 ve retinoik asit yolları ile odontoblasta farklılaşabildiği gösterilmiştir (Ozeki vd., 2013; Seki vd., 2015). Bugüne kadar, iPSC'ler deneylerin yalnızca erken bir aşamasında, esas olarak klinik uygulamalardan uzak kalan tüm diş rejenerasyonu konseptine yönelik olarak düşünülmüştür. Pluripotent kök hücreler olarak, farklılaşmamış hücrelerin transplantasyonundan sonra teratom oluşumu riskini önlemek için, bunların klinik kullanımları, zorunlu bir ön farklılaştırma aşamasına ve sıkı kontrole ihtiyaç duyar (Okita, Nagata, & Yamanaka, 2011).

2.2. Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri spesifik sinyal yollarının indüksiyonu, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve mineral birikimi gibi pulpa homeostazı ve diş morfogenezindeki her önemli hücresel olayı modüle eder (Takeuchi vd., 2015). Dentin üreten odontoblast tabakası ile vaskülarize ve innerve edilmiş pulpa dokusunu içeren fonksiyonel pulpa rejenerasyonu elde etmek için biyoaktif moleküllerin rolü büyüktür.

2.2.1. Kemik morfogenetik proteinleri(BMP)

BMP büyüme faktörü diş gelişiminde epitel dokusu ve mezenkim dokusunun etkileşimi, dişin kron modelinin oluşumunda önemli rol oynar (Gong, Heng, Lo, & Zhang, 2016; M Nakashima, 1994). Bazı çalışmalarda BMP-2, BMP-4 ve BMP-7'nin çeşitli hücrelerin odontoblast ve osteoblastlara proliferasyonu ve farklılaşmasında rol aldığı gösterilmiştir (K Iohara vd., 2004; Ozeki vd., 2017; Rutherford, 2001; Six, Lasfargues, & Goldberg, 2002). Ek olarak, ampute edilmiş pulpalarda, çeşitli koşullarda reperatif dentin oluşumunu indüklediği gösterilmiştir, ancak nekrotik pulpalarda rejeneratif

tedavideki uygulamaları pek geliştirilmemiştir (Casagrande vd., 2010; Rutherford & Gu, 2000).

2.2.2. Transforme edici büyüme faktörü-beta(TGF-B)

Büyük bir sinyal proteinleri ailesi olarak, immun cevap, kemotaksis, odontoblast farklılaşması, DPSC proliferasyonu ve farklılaşmasının yanı sıra dentin matrisinin üretimi ve salgılanması da dahil olmak üzere birçok hücreyel olayda yer alır (Bellamy, Shrestha, Torneck, & Kishen, 2016; Shimabukuro vd., 2009). Transforme büyüme faktörü B dentin-pulpa kompleksine sinyal göndererek ve rejenerasyonu sağlayan hücreyel yolları düzenler (G. T.-J. Huang vd., 2010).

2.2.3. Fibroblast Büyüme Faktörü(bFGF, FGF-2)

Fibroblast büyüme faktörü (FGF) çeşitli mezodermal ve nöroektodermal hücreleri etkileyebilir. FGF-2, proliferasyon, migrasyona yardımcı olur ve tek başına veya TGF B1 ile birlikte HDPC'nin odontoblastik farklılaşma potansiyelini artırır (He vd., 2008; Y.-S. Kim vd., 2010; Misako Nakashima & Akamine, 2005; J.-w. Yang, Zhang, Sun, Song, & Chen, 2015). Çeşitli doku iskelelerine dahil edilen FGF-2, dentin köprüsü oluşumu ve pulpa benzeri doku sentezi ile pulpa-dentin kompleksinin onarımında/rejenerasyonunda rol oynayabilir (Sakai vd., 2010).

2.2.4. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü(VEGF)

Doku rejenerasyonu sırasında kan damarı oluşumunun oksijen, beslenme, biyomolekül ve hücre taşınmasını desteklemek için önemi iyi bilinmektedir. VEGF, pulpa hücreleri tarafından üretilen ve anjiyogenez ve vaskülogenezi destekleyen dentin matrisinde salınan bir sinyal proteindir (Koichiro Iohara vd., 2009). VEGF'nin hem in vitro hem de in vivo olarak SHED' in anjiyojenik endotele farklılaşmasına aracılık ettiği gösterilmiştir (Mullane vd., 2008). SCAP ile birlikte VEGF yüklü polidioksan fiberlerin insan kök fragmanlarına implante edildiğinde anjiyogenezisi indüklediği görülmüştür. Kesilmiş insan diş pulpalarının rh-VEGF ile tedavi edildikten sonra mikrodamarlar yoğunluğunda artış ve neovaskülarizasyon tespit edilmiştir (Yadlapati vd., 2017).

Büyüme faktörleri, hücrelerin yerleşmesini indükleyerek hasarlı pulpadaki otolog kök hücreleri aktive edebilir ve ayrıca boş kök kanal boşluğuna uygun bir iskele ile enjekte edilen allojenik kök hücrelerin hücreyel süreçlerinde yer alırlar. Bu küçük proteinlerin nispeten kısa bir yarı ömre sahip olduğu düşünüldüğünde, onları uygun bir iskeleye yerleştirerek stabilize edilip sürekli salımları kontrol edebilir. Bununla birlikte, dentin matrisinin yanı sıra dental pulpası hücrelerinin de onarım işlemlerinde rol oynayan birçok biyoaktif molekül ürettiği açıktır. Rekombinant molekülleri uygulamak yerine bu faktörleri aktive etmek, klinik uygulamada pulpa iyileşmesi için muhtemelen daha uygulanabilir görünmektedir (Orti vd., 2018).

2.3. Doku İskeleleri

Doku iskelelerinin çeşitli özellikleri yerine getirmesi beklenir: hücrelerin doğru lokalizasyonunun desteklemelidir. Hücre-biyomateriyal etkileşimlerinin teşvik etmeli (hücre adezyonu ve ECM birikimi); oksijen, besin maddeleri, biyoaktif faktörler ve atık ürünlerin taşınmasına yardımcı olmalıdır. Hücre hayatta kalmasına, çoğalmasına ve farklılaşmasına katkıda bulunan uygun bir gözenek boyutuna, şekline ve hacmine sahip olmalıdır. Onarılmış doku oluşumundan sonra biyolojik olarak degrade olabilmelidir. Yeterli fiziksel ve mekanik mukavemete sahip olmalıdır ve çevredeki doku için anti-inflamatuar olmalı ve

toksik olmamalıdır (Gathani & Raghavendra, 2016). Bilimsel literatürde pulpanın rejenerasyonu ve onarımı için iskele olarak önerilen çok çeşitli biyomateriyaller bulunabilir.

2.3.1. Konaktan Elde Edilen İskeleler

2.3.1.1. Kanal içi kan pıhtısı

Kanamının indüksiyonu ve kanal içi kan pıhtısı oluşumu, pulpa-dentin rejenerasyonunda bir iskele sağlamak için rejeneratif endodontide kullanılan güncel bir prosedürdür (Chrepa, Austah, & Diogenes, 2017). Kanal içi kan pıhtısının avantajları, hücrelerin migrasyonunu, farklılaşmasını, vaskülarizasyonu ve doku rejenerasyonunu desteklemek için gerekli büyüme faktörlerini içeren çapraz bağlı fibrinden oluşan otolog bir yapı iskelesi sağlaması ve yabancı cisim tepkisine neden olmaz (Chrepa vd., 2017; Dianat vd., 2017; Jadhav, Shah, & Logani, 2012).

Kanal içi pıhtı uygulamasında, kanal boşluğuna düzensiz kök hücre girişinin bir sonucu olarak öngörülemez klinik sonuçlarının yanı sıra bazı hastalarda kanama ve hemostazı başlatmada zorluklar yaşanabilir (Dianat vd., 2017).

Bu engeller, rejeneratif endodontide kan pıhtısı kullanımının ana sınırlamalarıdır ve daha uygun doku iskeleleri için araştırma çabalarını sürmektedir. Bununla birlikte, kanal içi pıhtının son derece olumlu ve klinik olarak uygulanabilir özellikleri göz önüne alındığında, güvenilirliğini artırmak için stratejilerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Bu stratejilerin geliştirilmesi ile kanal içi pıhtı oluşturulması yöntemi RET için altın standart olarak güvence altına alabilir (Raddall, Mello, & Leung, 2019).

2.3.1.2. Trombositten Zengin Plazma (PRP)

Trombositten zengin plazma (PRP), hem rejeneratif endodonti hem de diğer cerrahi doku rejenerasyon prosedürlerinde çok sayıda in vitro ve klinik çalışmada kullanılan otolog enjekte edilebilir bir doku iskelesidir (Jadhav vd., 2012; Torabinejad & Turman, 2011; Trevino vd., 2011). Endodontik tedaviye ihtiyaç duyan hastadan elde edilen kan test tüpü içerisinde antikoagülanlarla karıştırılır. Tüp daha sonra trombositleri ve lökositleri, yüksek yoğunlukları nedeniyle altta daha hızlı toplanan eritrositlerden ayırmak için bir santrifüjde döndürülür (Saucedo, Yaffe, Berschback, Hsu, & Kalainov, 2012). PRP daha sonra trombosit bakımından fakir plazmadan ayrılır ve ayrıca trombosit konsantrasyonunu fizyolojik trombosit konsantrasyonundan yaklaşık 5 kat daha yüksek olan 1 milyon / μ L'ye kadar artırmak için işlenir (Jadhav vd., 2012; Saucedo vd., 2012; Trevino vd., 2011). PRP, trombositleri harekete geçiren ve degranülasyonu sağlayan kolajen sünger ile kanal boşluğuna taşınabilir (Trevino vd., 2011). Artmış trombosit sayısı, kök hücrelerin büyümesini ve proliferasyon oranlarını artırmakta ve doku rejenerasyon sürecini hızlandırmakta daha fazla miktarda büyüme faktörünün salınmasına sağlamaktadır (Jadhav vd., 2012). PRP, başarılı bir RET için temel olan yüksek anjiyogenez ve revaskülarizasyon oranlarını içerir. Ayrıca PRP, yabancı cisim reaksiyonu ve patojen geçişi olmaması, sentetik doku iskelelerine göre uygun maliyetli olması ve servikal sızdırmazlığı nedeniyle ilgi çekici bir doku iskelesidir (Bezgin, Yılmaz, Celik, Kolsuz, & Sonmez, 2015; Jadhav vd., 2012). PRP doku iskelesi kullanımı çocuk hastalarda kan almada uyum problemi yaşanabileceği için sınırlıdır. Ayrıca klinik kullanımı için ek ekipman gerekmektedir. Büyüme faktörlerinin hızla salınması ve rejenerasyon süreci boyunca seviyeleri önemli ölçüde azaldığı için uzun süreli pulpa detin rejenerasyonu bu iskele kullanılarak tam ve uzun süreli

olarak yönlendirilememektedir (Bezgin vd., 2015; Trevino vd., 2011).

2.3.2. Doğal Kaynaklı Polimerik İskeleler

2.3.2.1. Aljinat

Aljinat, kahverengi deniz yosununun hücre duvarlarından ve hücre içi boşluklarından arındırılmış doğal bir polisakkarittir ve biyomateryal uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Venkatesan, Nithya, Sudha, & Kim, 2014). Aljinat hidrojeller, polisakkaritlerin suda çözünmeyen bir ağda iyonik köprüler oluşturmaları için iki değerli katyonlarla çapraz bağlanmasıyla oluşturulur (Lambricht vd., 2014). Kök hücreler bu işlem sırasında jellere ekilebilir ve işleminin gerçekleştiği kanal boşluğuna enjekte edilebilir.

Bu hızlı jelleşme ve diğer biyopolimerler ile iyi karışma özellikleri, aljinatın 3 boyutlu bir doku iskelesi olarak yaygın kullanımına katkıda bulunmuştur. Doku mühendisliği uygulamalarında aljinat yapı iskelelerinin popülaritesi, biyouyumluluğuna, uygun immünojenitesine, düşük maliyetine bağlanabilir (Zhang, Morsi, Wang, Li, & Ramakrishna, 2013).

Ancak, doğal biyomalzemelerin potansiyel patojen geçişi, ürün değişkenliği ve yetersiz mekanik dayanım gibi genel komplikasyonları görülmektedir. Yapılan bir çalışmada diğer doğal hidrojellere göre aljinat hidrojelde in vitro koşullarda kök hücrelerin canlılığının önemli ölçüde azaldığı ve in vivo koşullarda da en yüksek apoptoz seviyeleri görülmüştür (Lambricht vd., 2014).

2.3.2.2. Hyalüronik Asit ve Türevleri

HA, CD44 gibi kök hücre membran reseptörleri ile etkileşime girebilen hücre dışı matrisin (ECM) doğal bileşenleri olan alternatif D-glukuronik asit ve N-asetil-D-glukozamin birimlerinden oluşan bir glikozaminoglikandır ve hücrelerel göçü tetikleyen sinyal yollarını etkinleştirmektedir (Lambricht vd., 2014).

HA ekstrasellüler boşluğu ve matrisin morfolojisini korur(Inuyama vd., 2010). HA ve türevleri, biyouyumlulukları, biyolojik olarak degrade olabilmeleri, biyoaktiviteleri ve doğal pulpa-dentin ECM'sine benzeyen gözenekli yapılarının olması gibi çok sayıda avantaja sahiptir (Chang, Ahuja, Ma, & Liu, 2017). HA doku iskelelerinin sınırlamaları arasında nispeten düşük mekanik mukavemet göstermeleri, pulpa dentin kompleksinin rejenerasyonu için BMP-2 ve TGF-B1 ile birleştirilmesi gerekmektedir. Ayrıca bakteri içermesine bağlı olarak oluşan hipersensitivite reaksiyonları HA doku iskelelerinin başka bir komplikasyonudur (Friedman, Mafong, Kauvar, & Geronemus, 2002).

2.3.2.3. Kitosan Türevleri

Kitosan, ECM'nin bileşenlerine benzer olan ve yengeç ve karides gibi deniz kabuklularının dış iskeletinin ana bileşeni olan kitinin N-deasetilasyonu yoluyla elde edilen doğrusal, katyonik bir aminopolisakkarit biyopolimerdir (Feng vd., 2014; Shrestha, Torneck, & Kishen, 2016). Kitosan biyoaktif moleküllerin işlevselleşmesine yardımcı olabilmektedir ve ayrıca sitotoksik olmayan metabolitlere enzimatik ve hidrolitik reaksiyonlarla parçalanabilen reaktif amin gruplarına da sahiptir (Jung, Yoon, Lee, & Shin, 2015; Shrestha, Diogenes, & Kishen, 2015).

Kitosan, hücre göçü gibi süreçleri kolaylaştırmak için, düşük bir maliyetle kolayca yüksek gözenekli bir yapıya dönüştürülebilir. Alternatif olarak kitosan, doku rejenerasyonu için iyonotropik jelleşme yoluyla nanopartiküller formunda hazırlanabilir (Souto vd., 2016). Doku rejenerasyonu amacıyla, nanopartiküllerin geometrik özellikleri, diğer biyomateryaller formatlarına kıyasla hücrelerin adezyonu ve biyolojik aktiviteleri için artan yüzey alanı nedeniyle genellikle arzu edilir.

Kütle taşıma özellikleri ayarlanabilir ve doku rejenerasyon prosedürlerinde kök hücre farklılaşmasını desteklemek ve düzenlemek için kritik olan TGF-β1 gibi temel büyüme faktörlerinin kontrollü salım platformuna dönüştürülebilir (Shrestha vd., 2015).

Kitosanın avantajları arasında biyouyumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği, düşük sitotoksite, düşük immünojenisite ve geniş spektrumlu antibakteriyel özellikleri bulunur (Shrestha vd., 2016; Souto vd., 2016). Ayrıca, kitosan nanopartikülleri mekanik olarak güçlüdür, bakteriyel enzimler tarafından bozunmaya dirençlidir ve güçlü kök kanalı antimikrobiyal ajanı NaOCl'ye maruz kalmış ortamlarda bile kök hücre adezyonu, canlılığını ve diferansiyasyonunu artırdığı gösterilmiştir (Shrestha vd., 2016). Bununla birlikte, kitosan kullanımı, olağandışı polikatonik zinciri ve yüksek kristalli yapısından dolayı karmaşık jelleşme ve degradasyon şeması gösterdiği için komplikedir ve bu nedenle, doğal olarak oluşan formunda enjekte edilebilir bir doku iskelesi olarak potansiyel uygulama aralığını sınırlar (Chang vd., 2017).

2.3.3. Sentetik İskeleler

2.3.3.1. PLLA Nanofibröz Mikrosfer

Poli (L-laktik asit) (PLLA) nano fibroz mikrosferin (NF-MS) kök hücrelerin büyümesi için yeni enjekte edilebilen bir iskele olarak kullanımı yakın zamanda incelenmiştir (Wang vd., 2016). Kontrollü BMP-2 salımına sahip PLLA NF-MS'nin avantajları arasında enjekte edilebilirlikleri ve kök kanal morfolojisine uyum sağlama yetenekleri, biyolojik olarak parçalanabilirlik ve büyüme faktörü ve ilaç katılımı potansiyeli bulunur. Kolajene benzer yapısı, yüksek gözeneklilik ve geniş yüzey alanıyla NF-MS, hücre adezyonunu, büyümesini ve ayrıca besin ve atık değişimini kolaylaştırır (Wang vd., 2016). Doku mühendisliğinde kullanılan diğer sentetik sistemler gibi, PLLA NF-MS sistemi de gözeneklerin çapı, morfolojisi ve yüzey özelliklerinin kontrolünü sağlamasının yanı sıra yabancı cisim reaksiyonuna neden olma olasılığı düşüktür (Ceccarelli vd., 2017). Wang ve ark. PLLA NF-MS iskelesinin yapısının istenen dentil tübülü oluşumuna rehberlik etmediği için oluşan düzensiz dokunun tedvainin başarısını etkileyecek bazı sınırlamaları olduğunu kaydetmiştir (Wang vd., 2016). Ayrıca PLLA NF-MS doku iskelesinin üretim maliyeti endojen ya da doğal olarak türetilmiş iskeleler düşünüldüğünde oldukça yüksektir. PLLA 'nın degradasyonu sonrasında oluşan asidik ortam hücre canlılığını olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle, in vivo uygulamalarda hidrolitik bozunma hızının dikkatli kontrolü gereklidir.

2.3.3.2. PLGA-PEG Nanopartikülleri

Son zamanlarda, Poli (laktit-ko glikolid) -polietilen glikol (PLGA-PEG) nanopartikülleri, dental kök hücreler için doku iskelesi olarak araştırılmıştır (Shiehzhadeh vd., 2014). PEG, yüksek moleküler ağırlıklı absorpsiyona dirençli bir polieterdir (Ceccarelli vd., 2017). PLGA ile birlikte, bu iskelenin, hidrojel ve

aljinata kıyasla dental pulpa fibroblastlarının proliferasyonuna ve dental dokuların gelişimine daha elverişli olduğu bulunmuştur (Shiehzhadeh vd., 2014). Birçok biyomateriyale kıyasla, PLGA-PEG nanopartiküllerinin çok sayıda avantajı vardır. Nanopartiküller, klinik olarak uygun sürelerde (haftalar / aylar) karbondioksit ve suya biyolojik olarak bozunabilir ve oda sıcaklığında şeffaf bir sıvı formundayken ve 37°C'de hızla opak bir jele dönüşebilir (Shiehzhadeh vd., 2014). PLGA-PEG nanopartikülleri ayrıca düşük toksisiteye, mükemmel biyouyumluluğa sahiptir ve minimum düzeyde immünojeniktir (Chang vd., 2017). Ek olarak, PEG bileşeni, residual bakterilerin biyomateriyalin yüzeyine yapışmasını engelleyen bir özelliğe sahiptir (Chang vd., 2017). Bununla birlikte, doku mühendisliğinde kullanılan diğer sentetik skalalarda olduğu gibi, PLGA-PEG nanopartiküllerinin kullanımı da üretim ve standardizasyon maliyetleri nedeniyle sınırlıdır.

2.3.3.3. VitroGel 3D

Sentetik polisakkarit hidrojel, VitroGel 3D, kanal içi sert doku birikimini ve RET'de devam eden kök gelişimini destekleme konusunda umut veren bir materyaldir. Pulpadaki ECM 'yi taklit edebilir, kanal morfolojisine uyum sağlar düşük immünojite düşük sitotoksikite gösterir, biyobozunur bir malzemedir. Bununla birlikte diğer enjekte edilebilen doku iskelelerinde olduğu gibi VitroGel 3 D'de üretim aşamasındaki zorluklar ve maliyet klinik fizibilitesini engellemektedir (Raddall vd., 2019).

2.4. Organoidlerin Rejeneratif Dental Uygulamalarda Kullanımı

Organoidler, diğer mevcut hücre kültürü sistemleri kullanılarak modellenemeyen doku ve organların temel işlevlerini yeniden yapılandırmaya çalışan biyomühendislik uygulamalarıdır (França vd., 2020). Biyomedikal araştırmalarının bütün dallarında ve pratikte dişçilik dahil insan organları ve patolojilerinin modellenmesinde uygun sistemlere sürekli ihtiyaç vardır. Hayvan modelleri ve iki boyutlu insan hücre kültür sistemleri yeni hücre temelli ve farmasötik tedavilerin geliştirilmesinde geleneksel olarak birçok klinik öncesi çalışmada kullanılmıştır. Fakat klinik öncesi sonuçların etkin olarak kullanımı düşük kalmıştır. Bu da doğru insan-benzetim sistemlerinin ihtiyacını vurgulamaktadır. Sferoidler, orgnoidler, mikrofluidiklar ve çip üstü organ teknolojilerindeki son gelişmeler umut vaad etmektedir. Organoidler dokuya özgü fizyolojiyi modellemek ve anlamak için giderek daha fazla kullanılan, birincil kök hücreler ve dokular tarafından elde edilen üç boyutlu kültür sistemleridir. Sistemin üç boyutlu yapısı, dokuya özgü heterojen hücre tiplerini oluşturan karmaşık hücre-hücre etkileşimlerinin ve oksijen, besin ve çözünür sinyal gradyanlarının kurulmasına izin verir (Orsini, Pagella, Putignano, & Mitsiadis, 2018).

Çip üstü organ, epitelyal, mezenkimal, endotel ve nöronal hücreler ve/veya dokular gibi organa özgü elementlerin kültürlendiği farklı odalardan oluşan mikroakışkan veya nanoakışkan cihazlardır. Organizmaya özel karmaşık fizyolojik ve patolojik süreçlerin modellenmesine ve analizine izin veren elektrikselsel uyaranların yanı sıra, gözenekli membranlar, farklı odalar arasında moleküler geçişe izin verirken, kan dolaşımı, zenginleştirilmiş ve özel ortamın düzenlenmiş akışı ile simüle edilir. Bu cihazlar, fizyolojik hareketleri ve gerilimleri yeniden oluşturmak için mekanik kuvvetleri birleştirebilir (Bhatia & Ingber, 2014) Daha da önemlisi, dolaşımdaki bağışıklık hücreleri ve hatta canlı mikrobiyomlar, karmaşık organ düzeyindeki tepkileri taklit etmek için bu cihazlara entegre edilebilir (Ingber,

2016). Bu cihazlar, in vivo olarak sistematik olarak çalışılması çok zor olan ve çok hücreli sistemler, hücre-hücre/hücre-matris etkileşimlerini, doku mekaniğini ve dental pulpa gibi kompleks dokularda doğal olarak bulunan sıvı akış koşullarını sistematik ve tekrarlanabilir şekilde çoğaltmayı mümkün kılar ve doğrudan deneysel kontrol sağlar (Huh, Torisawa, Hamilton, Kim, & Ingber, 2012).

Çip üstü organ modellerinde yapılanlara benzer şekilde, çip üstü diş, dentin-pulpa dokusunun çok çeşitli sistematik araştırmaların yapılmasını sağlamıştır. Çip üzerine diş modelinin gelişimi ve karakterizasyonu ile ilgili bir çalışmada; dental pulpanın dentin ile doğrudan bir arayüz oluşturduğu ve dentin tübülleri yoluyla ağız boşluğu ile gerçek bir pulpa boşluğunda olduğu gibi dolaylı temas oluşturduğu, diş ve eksojen oral bileşenler (bakteriler, dental materyaller, tükürük, ağız bakım ürünleri) arasında kontrol edilebilir bir arayüz oluşumunu mümkün kılacak şekilde tasarlanabileceği ortaya konmuştur (França vd., 2020). Bu bileşenler, geçirgen bir bariyer görevi görecek olan dentin ile doğrudan temas ettirilebilir ve alta yatan canlı dental pulpa ile dolaylı bir arayüz oluşturulabilir. Bu arayüzlerin çoğu, diş pulpasının mevcut modellerinde bir dereceye kadar çoğaltılmıştır (Camilleri, Laurent, & About, 2014). Bununla birlikte, çip üstü diş, pulpa dokusunun eksojen bileşenlere anlık tepkisinin gerçek zamanlı, sürekli ve kontrol edilebilir koşullar altında değerlendirilmesini ve ölçülmesini sağlar, bu da benzersiz bir avantajdır. Dahası, cihaz geleneksel bir USB sürücüsünden daha küçük olduğu için, bir yanıtı değerlendirmek için gereken hacimler çok küçüktür ve bu da deneylerin maliyetlerini daha da düşürür ve verimi artırır (Bertassoni, 2020). Çip üstü diş modelinin fonksiyonunun gösterilmesi amaçlanan bir çalışmada dentin içine gömülü yayılabilir matris faktörlerinin vaskülojenik aktivitesini belirlemek için dentine yönelik sıvı akışı kullanılarak bir dakika süreyle EDTA uygulanmış, endotelial ve mezenkimal kök hücrelerin ortak kültürü ile yüklenmiş bir hidrojel içine yerleştirilmiştir. Sonuçlar sıvı akışı olmayan örneklerle karşılaştırıldığında dentine yönelik sıvı akışı kullanılan örneklerde vaskülarizasyonun daha iyi ve hızlı olduğu gözlemlenmiştir (Franca, 2020). Yapılan bir çalışmada mezenkimal kökenli hücreler kullanılarak dentin-pulpa benzeri organoidler farklı kültür koşulları altında üretilmeye çalışılmıştır. Odontojenik farklılaşma ortamında 11 gün sonramineralizasyon ve odontoblastik farklılaşma görülmüştür. Sonuçta mezenkimal kök hücreleri kullanılarak dentin-pulpa benzeri organoidlerin üretiminin, gelecekte rejeneratif dental uygulamalar için yeni bir araştırma aracı olma potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Jeong vd., 2020). Sonuç olarak, çip üstü diş, pulpa-dentin arayüzünü in-vivo olarak taklit eden, gerçek zamanlı olarak ve bu etkileşimlerin meydana geldiği bağlamda insan pulpası hücre yanıtlarının araştırılmasına olanak tanıyan oldukça kontrol edilebilir bir üç boyutlu ortam sağlar.

2.5. Rejenerasyon: Tedavi Seçeneği mi Yoksa Kanserin Kökeni mi?

Rejenerasyon terimi, fiziksel veya işlevsel olarak kaybolan hücrelerin, dokuların ve organların iyi koordine edilmiş bir restorasyonunu ifade eder. Bu onarım süreci, fizyolojik ve yapısal değişiklikleri yönlendirmek için, aynı anda yeni oluşan ve önceden var olan dokular arasında fonksiyonel entegrasyonu sağlarken, eksik yapıların tanınmasını ve yenilenmesini sağlamalıdır. Hücresel çoğaltmayı içeren rejenerasyon, hücre döngüsünü verimli bir şekilde düzenleme kapasitesine sahip

sinyaller gerektirir (Alvarado, 2000; Odelberg, 2002). Rejenerasyon sürecine katılan hücreler tam olarak ihtiyaç duyulan alanlara yönlendirilmelidir ve rejenerasyon tamamlandığında, rejeneratif başarıyı ve sinyal sonlandırmayı bildirmek için özel uyarıcılar gerekir. Aksi takdirde, ilk tepki süresiz olarak devam edecek ve vücut homeostazi için istenmeyen sonuçlara neden olacaktır (Oviedo & Beane, 2009).

Rejenerasyon aslında birbirinin tersi olarak hem anormal büyümenin kaynağına katkıda bulunabilir hem de büyüme anormalliklerini önlemek ve düzeltmek için bir yol sağlayabilir. Rejeneratif tedaviler ve malignite (kötü huylu) iki hipotez ile özetlenmektedir: 1) Malign tümörlerin oluşumu, bozulmuş veya eksik bir rejeneratif süreçten kaynaklanır. 2) Rejenerasyon süreci, kötü huylu hücrelerin otonom büyümesini kontrol altına alabilir (Oviedo & Beane, 2009). İlk hipotez büyük ölçüde memelilerde lokal doku onarımı gözlemlerine dayanmaktadır; burada kronik hasara veya hipoksik koşullara maruz kalan epitel yüzeyleri ve iltihaplanma, rejeneratif yanıt sırasında büyüme sapmalarına neden olur (Kluwe, Mencin, & Schwabe, 2009; Oviedo & Beane, 2009). İkinci hipotez, tersine, rejenerasyon sırasında indüklenen hücresel proliferasyonun ardından morfojenetik süreçler gelirse, rejenerasyonun anormal büyümeyi önleme ve daha şaşırtıcı bir şekilde, maligniteleri tersine çevirme ve morfojenetik yeniden kazanma potansiyeline sahip olduğunu öne sürmektedir (Oviedo & Beane, 2009). Kök hücreler çeşitli özel dokular oluşturabilir ve klinik uygulamalar için giderek daha fazla kullanılmaktadır. Bununla birlikte, kök hücreler de kanserli dokularda bulunur ve kanserin ilerlemesi ve metastazında rol oynar. Doğan ve ark. (Doğan, Demirci, Apdik, Apdik, & Şahin, 2017) yaptığı bir çalışmada dental pulpa kökenli kök hücrelerin prostat kanseri üzerine etkisi in vitro koşullarda değerlendirilmiştir. Sonuçta dental pulpa kökenli kök hücrelerin prostat kanseri hücrelerinin göçünü artırarak malign hücrelerin çoğalmasını artırabildiği bildirilmiştir.

Sinyal molekülleri, rejeneratif süreçleri düzenledikleri için doku mühendisliğinde önemli bir rol oynarlar. Kemik morfojenetik proteinleri (BMP'ler), TGF- β üst ailesinin üyeleridir. Son yapılan çalışmalarda BMP'ler yüksek kanser riski ile ilişkilendirilip, kanser oluşumunun doza bağlı olabileceği ve klinik kullanımı için klavuzlara ihtiyaç duyulabileceği vurgulanmaktadır (Chrastil, Low, Whang, & Patel, 2013; DeVine, Dettori, France, Brodt, & McGuire, 2012). Doku mühendisliği yaklaşımlarında enamel, dentin ve pulpa doku rejenerasyonu, içlü takım gibi düşünülebilecek doku iskeleleri, öncü/kök hücreler ve büyüme faktörlerinin kullanımı ile bağlantılı araştırılmaktadır (Ahmed vd., 2020). Rejeneratif uygulamalarda ve kanserde etkili tedaviler geliştirmek için hücre büyümesini kontrol eden etmenlerin daha iyi anlaşılması çok önemlidir. Rejeneratif endodontik tedavinin mutajenik ve karsinojenik potansiyelinin belirlenmesi ile ilgili çalışmalara ihtiyaç vardır.

3. Tedavi Prosedürü

AAE(Amerika Endodontist Derneği) Rejeneratif endodontik Tedaviler için klinik uygulamalarda kullanılmak üzere tedavi prosedürü oluşturmuştur. Bu prosedüre göre vaka seçiminden kontrol seanslarına göre izlenmesi gereken yollar şu şekilde olmalıdır (Endodontics, 2018).

3.1. Vaka seçimi

Vaka seçiminde nekrotik pulpası olan ve kök gelişimini tamamlamamış dişleri olan, kullanılacak ilaç ve antibiyotiklere alerjisi olmayan (ASA1 ve 2), uyumlu hasta ve ebeveynler e-ISSN: 2148-2683

olmasına dikkat edilmelidir. Hastalar ve velileri tedavi sürecinde en az 2 randevu olduğu, dişlerde renklenme oluşabileceği, tedavinin başarısız olup ağrı ve enfeksiyon oluşabileceği ve bu durumlarla karşılaşılırsa MTA apeksifikasyon, tedavi edilmeme ve çekim gibi alternatif tedavi seçenekleri konusunda bilgilendirilmeli ve onamları alınmalıdır.

3.2. İlk randevu

Lokal anestezi uygulanmasının ardından rubberdam ile izolasyon sağlanır ve giriş kavitesi açılır. Kök kanalları %1.5 'lik NaOCl solüsyonu ile 5 dk boyunca her kanal için 20 ml olacak şekilde nazik ve bolca irriga edilir. İrrigasyon solüsyonunun periapikal dokulara taşmasını önlemek için kapalı uçlu yan delikli iğne ya da ENdovac sistemi kullanılabilir. Sonrasında her kanal için 5 dk boyunca 20 ml steril salin solüsyonu veya EDTA ile kanallar irriga edilir. İrrigasyon solüsyonlarının periapikal dokular için sitotoksik etki oluşturmaması için irrigasyon kök ucundan 1 mm kısa olacak şekilde gerçekleştirilir. Kanallar kağıt konlarla kurulanır. Sonrasında kanallar içine kalsiyum hidroksit ya da düşük konsantrasyonda üçlü antibiyotik patı (TAP) yerleştirilir. Üçlü antibiyotik patı kullanılacaksa renklenme olasılığını en aza indirmek için pulpa odasına bond uygulaması yapılabilir. Üçlü antibiyotik patı 1:1:1 oranında metronidazol, siprofloksasin, minosiklin olacak şekilde nihai konsantrasyon 0.1-1 mg/ml olana kadar karıştırılır. Üçlü antibiyotik patı dişte oluşan renklenme ile ilişkilendirilmiştir. Kök kanallarının dezenfekte edilmesinde minosiklin içermeyen 2'li antibiyotik patı (metronidazol, ciprofloksasin) ya da minosiklin yerine farklı bir alternatif (klindamisin, amoksisilin, sefaklor) kullanılabilir. Eğer üçlü antibiyotik patı tercih edildiyse renklemeyi önlemek adına patın mine-sement sınırının altında yer almasına dikkat edilmelidir. Giriş kavitesi 3-4 mm kalınlığında olacak şekilde Cavit, IRM, cam iyonomer ya da herhangi bir geçici restorasyon malzemesi ile kapatılıp hastaya 1-4 hafta sonraya randevu verilir.

3.3. İkinci randevu (ilk ziyaretten 1-4 hafta sonra)

İlk tedaviye yanıt değerlendirilir. Kalıcı bir enfeksiyonun semptomları mevcut ise antimikrobiyal tedaviye ek tedavi süresi ve alternatif antimikrobiyal tedavi seçenekleri düşünülmelidir. Vazokonstriktör içermeyen %3 'lük mepivacain uygulanarak anestezi yapıp, rubber dam ile izolasyon sağlanır. 20 ml %17 EDTA ile bol ve nazik irrigasyon yapılır. Kağıt konlarla kurulanır. Mine seiment sınırına kadar kök kanalının tamamının kanla dolmasını sağlamak için K tipi eğe ile kök kanalından 2 mm uzun olacak şekilde over enstrümantasyon yapılır. Kan pıhtısı oluşumunda alternatif olarak trombositten zengin plazma (PRP), trombositten zengin fibrin (PRF) veya otolog fibrin matriks (AFM) kullanılabilir. 3-4 mm restoratif materyal uygulamaya yetecek düzeye kadar kanama durdurulur. Gerekirse kan pıhtısı üzerine CollaPlug™, Collacote™, CollaTape™ gibi rezorbe olabilen bir matris ve kapatma malzemesi olarak beyaz MTA yerleştirilir. Kapatma malzemesinin üzerine 3-4 mm kalınlığında cam iyonomer siman (e.g. Fuji IX™, GC America, Alsip, IL) uygulanır ve 40 sn süre ile ışınlanır. MTA renklenme ile ilişkilendirilmektedir. Estetik kaygının yüksek olduğu durumlarda MTA 'ya alternatif olarak bioseramik ve trikalsiyum silikat simanlar[örn., Biodentine®, Septodont, Lancasted, PA, ABD] düşünülmelidir.

3.4. Takip

Klinik ve radyolojik değerlendirme

- Ağrı, yumuşak doku şişliği, fistül yolu olmamalı(Sıklıkla birinci ve ikinci randevular arasında gözlenir.)

- Apikal radyölüsensinin azalması (genellikle tedaviden 6-12 ay sonra görülür)
- Kök duvarlarının genişliğinde artış (bu genellikle kök uzunluğundaki belirgin artıştan önce görülür ve genellikle tedaviden 12-24 ay sonra ortaya çıkar).
- Kök uzunluğu artması
- Vitalite testlerine yanıt değerlendirilmelidir.

Rejeneratif Endodontik Prosedürlerin başarısı büyük oranda birincil, ikincil ve üçüncül hedeflere ulaşmanın mümkün olduğu ölçüde ölçülür:

- Birincil hedef: Semptomların ortadan kaldırılması ve kemik iyileşmesinin kanıtları
- İkincil hedef: Kök duvar kalınlığının artması ve / veya kök uzunluğunun artması (arzu edilir, ancak belki gerekli değildir)
- Üçüncül hedef: Vitalite testine pozitif yanıt (eğer başarılırsa, daha organize bir vital pulpa dokusunu gösterebilir)

Yapılan çalışmalarda Rejeneratif endodontik tedavinin birincil amacı olan enfeksiyonun bulgu ve semptomlarının ortadan kalkıp kemik iyileşmesinin gerçekleşmesi genel olarak ulaşılabilir bir hedef olduğu gösterilmiştir (Y. P. Chen, Jovani-Sancho, & Sheth, 2015). Son zamanlarda yapılan iki sistematik inceleme RET'in birincil amacına yüksek olasılıklarla (%91-94 oranında periapikal iyileşme) güvenilir bir şekilde ulaşılabileneğini göstermiştir (Tong vd., 2017; Torabinejad, Nosrat, Verma, & Udochukwu, 2017). Çalışmaların çoğunda, RET 'in ikincil amaç olan kanal duvarlarının kalınlaşmasını ve / veya nekrotik pulpalı olgunlaşmamış kalıcı dişlerin devam eden kök gelişimini teşvik etme potansiyeline sahip olduğunu bildirilmiştir. Bununla birlikte, bu gözlemler, nekrotik pulpalı olgunlaşmamış kalıcı dişlerin RET'inden sonra her zaman öngörülebilir değildir (Alobaid vd., 2014; M. H. Chen vd., 2012; Kahler vd., 2014; Tong vd., 2017). Yapılan araştırmalarda nekrotik pulpalı olgunlaşmamış kalıcı dişlerin RET'den sonra üçüncül hedef olan pulpa duyarlılığı testine pozitif yanıtın geri dönüşünün yayınlanan vakaların % 50-60'ında olduğu bildirilmiştir (Diogenes, Henry, Teixeira, & Hargreaves, 2013; Diogenes & Ruparel, 2017).

Rejeneratif endodontik tedaviden sonra dişin renginin değişmesinin potansiyel olarak ciddi bir komplikasyon olduğu bildirilmiştir (Kahler & Rossi-Fedele, 2016). Renk değişikliği, TAP'de minosiklin varlığı ile ilişkilendirilmiştir (J.-H. Kim, Kim, Shin, Park, & Jung, 2010). Bu amaçla minosiklin içermeyen 2'li antibiyotik patı(metronidazol, ciprofloksasin) ya da minoksiklin yerine farklı bir alternatif (klindamisin, amoksisilin, sefaklor) kullanılabilir (Endodontics, 2018). MTA kullanımı da renk değişikliğine yol açabilmektedir (Parirokh & Torabinejad, 2010). Renklenme olasılığını en aza indirmek için MTA yerine Biodentin kullanılabileceği bildirilmiştir (Marconyak Jr vd., 2016; Yoldaş, Bani, Atabek, & Bodur, 2016). Vaka raporlarının çoğunda iyileşme, sert doku birikimi ve değişen derecelerde devam eden kök gelişimi bildirilmiştir. Bununla birlikte, rejeneratif prosedürlerden sonra bazı olumsuz sonuçlarda bulunmaktadır (Gomes-Filho vd., 2012; Reynolds, Johnson, & Cohenca, 2009). Renklenme, ağrı, kök oluşumunun devam etmemesi, kısmi kanal obliterasyonu, enfeksiyon ve kırık oluşumu rapor edilmiştir (Alobaid vd., 2014; Jeeruphan vd., 2012; Kahler vd., 2014; Petrino, Boda, Shambarger, Bowles, & McClanahan, 2010).

Ayrıca insan dişlerinin kök kanal boşluğunda oluşan dokunun histolojik değerlendirmesi ile ilgili net veriler olmamasına rağmen hayvanlarda üzerinde yapılan değerlendirmeler bulunmaktadır. Bu değerlendirmelerin sonucuna göre kök kanal

duvarlarının kalınlaşmasından sorumlu olana dokunun sement, kemik ve periodontal ligament benzeri doku olduğu saptanmıştır (Nosrat, Seifi, & Asgary, 2011). Bu durum uzun dönemde pulpa boşluğunda bulunan farklı tipteki dokunun nasıl bir davranış göstereceği sorusunu ortaya çıkarmıştır.

4. Sonuç

Rejeneratif endodontik tedavi alanında yapılan birçok çalışma oldukça umut verici olsa da şu anda kullanılan teknikler açısından halen daha gelişme aşamasındadır. Önerilen biyomalzemeler ve yöntemlerin avantajları yanında klinik fizibiliteyi açısından da ayrıntılı değerlendirilmesi önemlidir. Özellikle hücre bazlı doku mühendisliği uygulamaları ile ilgili araştırmalarla rejeneratif endodontinin geliştirilmesi, çekim ve implant uygulaması gibi daha karmaşık yöntemlere olan ihtiyacı ortadan kaldıracaktır. Bu işlemlerle ilgili güçlü bilimsel kanıtlar geliştirmek için daha fazla araştırma ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kaynakça

- Alobaid, A. S., Cortes, L. M., Lo, J., Nguyen, T. T., Albert, J., Abu-Melha, A. S.,...Gibbs, J. L. (2014). Radiographic and clinical outcomes of the treatment of immature permanent teeth by revascularization or apexification: a pilot retrospective cohort study. *Journal of endodontics*, 40(8), 1063-1070.
- Alvarado, A. S. (2000). Regeneration in the metazoans: why does it happen? *Bioessays*, 22(6), 578-590.
- Andreasen, J. O., Farik, B., & Munksgaard, E. C. (2002). Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dental Traumatology*, 18(3), 134-137.
- Bellamy, C., Shrestha, S., Torneck, C., & Kishen, A. (2016). Effects of a bioactive scaffold containing a sustained transforming growth factor-β1-releasing nanoparticle system on the migration and differentiation of stem cells from the apical papilla. *Journal of endodontics*, 42(9), 1385-1392.
- Bertassoni, L. E. (2020). Progress and Challenges in Microengineering the Dental Pulp Vascular Microenvironment. *Journal of Endodontics*, 46(9), S90-S100.
- Bezgin, T., Yilmaz, A. D., Celik, B. N., Kolsuz, M. E., & Sonmez, H. (2015). Efficacy of platelet-rich plasma as a scaffold in regenerative endodontic treatment. *Journal of endodontics*, 41(1), 36-44.
- Bhatia, S. N., & Ingber, D. E. (2014). Microfluidic organs-on-chips. *Nature biotechnology*, 32(8), 760-772.
- Camilleri, J., Laurent, P., & About, I. (2014). Hydration of biodentine, theracal lc, and a prototype tricalcium silicate-based dentin replacement material after pulp capping in entire tooth cultures. *Journal of Endodontics*, 40(11), 1846-1854.
- Casagrande, L., Demarco, F., Zhang, Z., Araujo, F., Shi, S., & Nör, J. (2010). Dentin-derived BMP-2 and odontoblast differentiation. *Journal of dental research*, 89(6), 603-608.
- Ceccarelli, G., Presta, R., Benedetti, L., Cusella De Angelis, M. G., Lupi, S. M., & Rodriguez y Baena, R. (2017). Emerging perspectives in scaffold for tissue engineering in oral surgery. *Stem Cells International*, 2017.
- Chang, B., Ahuja, N., Ma, C., & Liu, X. (2017). Injectable scaffolds: Preparation and application in dental and craniofacial regeneration. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 111, 1-26.
- Chen, M. H., Chen, K. L., Chen, C. A., Tayebaty, F., Rosenberg, P., & Lin, L. (2012). Responses of immature permanent teeth

- with infected necrotic pulp tissue and apical periodontitis/abscess to revascularization procedures. *International endodontic journal*, 45(3), 294-305.
- Chen, Y., Yu, Y., Chen, L., Ye, L., Cui, J., Sun, Q.,...Liu, L. (2015). Human umbilical cord mesenchymal stem cells: a new therapeutic option for tooth regeneration. *Stem Cells International*, 2015.
- Chen, Y. P., Jovani-Sancho, M. d. M., & Sheth, C. C. (2015). Is revascularization of immature permanent teeth an effective and reproducible technique? *Dental Traumatology*, 31(6), 429-436.
- Chrastil, J., Low, J. B., Whang, P. G., & Patel, A. A. (2013). Complications associated with the use of the recombinant human bone morphogenetic proteins for posterior interbody fusions of the lumbar spine. *Spine*, 38(16), E1020-E1027.
- Chrepa, V., Austah, O., & Diogenes, A. (2017). Evaluation of a commercially available hyaluronic acid hydrogel (Restylane) as injectable scaffold for dental pulp regeneration: an in vitro evaluation. *Journal of endodontics*, 43(2), 257-262.
- Chueh, L.-H., & Huang, G. T.-J. (2006). Immature teeth with periradicular periodontitis or abscess undergoing apexogenesis: a paradigm shift. *Journal of endodontics*, 32(12), 1205-1213.
- Collart-Dutilleul, P.-Y., Chaubron, F., De Vos, J., & Cuisinier, F. J. (2015). Allogenic banking of dental pulp stem cells for innovative therapeutics. *World journal of stem cells*, 7(7), 1010.
- DeVine, J. G., Dettori, J. R., France, J. C., Brodt, E., & McGuire, R. A. (2012). The use of rhBMP in spine surgery: is there a cancer risk? *Evidence-based spine-care journal*, 3(2), 35.
- Dianat, O., Mashhadi Abas, F., Paymanpour, P., Eghbal, M. J., Haddadpour, S., & Bahrololumi, N. (2017). Endodontic repair in immature dogs' teeth with apical periodontitis: blood clot vs plasma rich in growth factors scaffold. *Dental Traumatology*, 33(2), 84-90.
- Diogenes, A., Henry, M. A., Teixeira, F. B., & Hargreaves, K. M. (2013). An update on clinical regenerative endodontics. *Endodontic Topics*, 28(1), 2-23.
- Diogenes, A., & Ruparel, N. B. (2017). Regenerative endodontic procedures: clinical outcomes. *Dental Clinics*, 61(1), 111-125.
- Discher, D. E., Mooney, D. J., & Zandstra, P. W. (2009). Growth factors, matrices, and forces combine and control stem cells. *Science*, 324(5935), 1673-1677.
- Doğan, A., Demirci, S., Apdik, H., Apdik, E. A., & Şahin, F. (2017). Dental pulp stem cells (DPSCs) increase prostate cancer cell proliferation and migration under in vitro conditions. *Tissue and Cell*, 49(6), 711-718.
- Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D.,...Horwitz, E. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4), 315-317.
- Ducet, M., Fabre, H., Farges, J.-C., Degoul, O., Atzeni, G., McGuckin, C.,... Perrier-Groult, E. (2015). Production of human dental pulp cells with a medicinal manufacturing approach. *Journal of endodontics*, 41(9), 1492-1499.
- El Omar, R., Beroud, J., Stoltz, J.-F., Menu, P., Velot, E., & Decot, V. (2014). Umbilical cord mesenchymal stem cells: the new gold standard for mesenchymal stem cell-based therapies? *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 20(5), 523-544.
- Endodontics, A. A. o. (2018). AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure.
- Feng, X., Lu, X., Huang, D., Xing, J., Feng, G., Jin, G., . . . Nie, D. (2014). 3D porous chitosan scaffolds suit survival and neural differentiation of dental pulp stem cells. *Cellular and molecular neurobiology*, 34(6), 859-870.
- Forraz, N., & McGuckin, C. (2011). The umbilical cord: a rich and ethical stem cell source to advance regenerative medicine. *Cell Proliferation*, 44, 60-69.
- França, C. M., Tahayeri, A., Rodrigues, N. S., Ferdosian, S., Rontani, R. M. P., Sereda, G.,...Bertassoni, L. E. (2020). The tooth on-a-chip: a microphysiologic model system mimicking the biologic interface of the tooth with biomaterials. *Lab on a Chip*, 20(2), 405-413.
- Frank, A. L. (1966). Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. *The Journal of the American Dental Association*, 72(1), 87-93.
- Friedman, P. M., Mafong, E. A., Kauvar, A. N., & Geronemus, R. G. (2002). Safety data of injectable nonanimal stabilized hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation. *Dermatologic Surgery*, 28(6), 491-494.
- Galler, K., Krastl, G., Simon, S., Van Gorp, G., Meschi, N., Vahedi, B., & Lambrechts, P. (2016). European Society of Endodontology position statement: revitalization procedures. *International endodontic journal*, 49(8), 717-723.
- Gathani, K. M., & Raghavendra, S. S. (2016). Scaffolds in regenerative endodontics: A review. *Dental research journal*, 13(5), 379.
- Geraldine M. Ahmed, ve ark., Review Article; Tissue Engineering Approaches for Enamel, Dentin, and Pulp Regeneration: An Update, *Hindawi, Stem Cells International*, Volume 2020, Article ID 5734539, 15 pages, <https://doi.org/10.1155/2020/5734539>.
- Gomes-Filho, J. E., Duarte, P. C. T., de Oliveira, C. B., Watanabe, S., Lodi, C. S., Cintra, L. T. Â., & Bernabé, P. F. E. (2012). Tissue reaction to a triantibiotic paste used for endodontic tissue self-regeneration of nonvital immature permanent teeth. *Journal of endodontics*, 38(1), 91-94.
- Gong, T., Heng, B. C., Lo, E. C. M., & Zhang, C. (2016). Current advance and future prospects of tissue engineering approach to dentin/pulp regenerative therapy. *Stem Cells International*, 2016.
- Gronthos, S., Brahimi, J., Li, W., Fisher, L., Cherman, N., Boyde, A.,...Shi, S. (2002). Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *Journal of dental research*, 81(8), 531-535.
- Gronthos, S., Mankani, M., Brahimi, J., Robey, P. G., & Shi, S. (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(25), 13625-13630.
- He, H., Yu, J., Liu, Y., Lu, S., Liu, H., Shi, J., & Jin, Y. (2008). Effects of FGF2 and TGFβ1 on the differentiation of human dental pulp stem cells in vitro. *Cell biology international*, 32(7), 827-834.
- Heithersay, G. S. (1975). Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. *International endodontic journal*, 8(2), 74-93.
- Hiyama, T., Ozeki, N., Mogi, M., Yamaguchi, H., Kawai, R., Nakata, K., Nakamura, H. (2013). Matrix metalloproteinase-3 in odontoblastic cells derived from ips cells: unique proliferation response as odontoblastic cells derived from ES cells. *PloS one*, 8(12), e83563.
- Hu, B., Unda, F., Bopp-Kuchler, S., Jimenez, L., Wang, X., Haikel, Y.,...Lesot, H. (2006). Bone marrow cells can give rise to ameloblast-like cells. *Journal of dental research*, 85(5), 416-421.

- Huang, G.-J., Gronthos, S., & Shi, S. (2009). Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *Journal of dental research*, 88(9), 792-806.
- Huang, G. T.-J., & Lin, L. M. (2008). Letter to the editor: Comments on the use of the term "revascularization" to describe. *Journal of endodontics*, 34(5), 511.
- Huang, G. T.-J., Yamaza, T., Shea, L. D., Djouad, F., Kuhn, N. Z., Tuan, R. S., & Shi, S. (2010). Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. *Tissue Engineering Part A*, 16(2), 605-615.
- Huang, G. T. (2009). Pulp and dentin tissue engineering and regeneration: current progress. *Regenerative medicine*, 4(5), 697-707.
- Huh, D., Torisawa, Y.-s., Hamilton, G. A., Kim, H. J., & Ingber, D. E. (2012). Microengineered physiological biomimicry: organs-on-chips. *Lab on a Chip*, 12(12), 2156-2164.
- Ingber, D. E. (2016). Reverse engineering human pathophysiology with organs-on-chips. *Cell*, 164(6), 1105-1109.
- Inuyama, Y., Kitamura, C., Nishihara, T., Morotomi, T., Nagayoshi, M., Tabata, Y.,...Terashita, M. (2010). Effects of hyaluronic acid sponge as a scaffold on odontoblastic cell line and amputated dental pulp. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 92(1), 120-128.
- Iohara, K., Nakashima, M., Ito, M., Ishikawa, M., Nakasima, A., & Akamine, A. (2004). Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. *Journal of dental research*, 83(8), 590-595.
- Iohara, K., Zheng, L., Ito, M., Ishizaka, R., Nakamura, H., Into, T.,...Nakashima, M. (2009). Regeneration of dental pulp after pulpotomy by transplantation of CD31-/CD146-side population cells from a canine tooth.
- Ishizaka, R., Iohara, K., Murakami, M., Fukuta, O., & Nakashima, M. (2012). Regeneration of dental pulp following pulpectomy by fractionated stem/progenitor cells from bone marrow and adipose tissue. *Biomaterials*, 33(7), 2109-2118.
- Iwaya, S. i., Ikawa, M., & Kubota, M. (2001). Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dental Traumatology*, 17(4), 185-187.
- Jadhav, G., Shah, N., & Logani, A. (2012). Revascularization with and without platelet-rich plasma in nonvital, immature, anterior teeth: a pilot clinical study. *Journal of endodontics*, 38(12), 1581-1587.
- Jeeruphan, T., Jantararat, J., Yanpiset, K., Suwannapan, L., Khewsawai, P., & Hargreaves, K. M. (2012). Mahidol study 1: comparison of radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods: a retrospective study. *Journal of endodontics*, 38(10), 1330-1336.
- Jung, S.-M., Yoon, G. H., Lee, H. C., & Shin, H. S. (2015). Chitosan nanoparticle/PCL nanofiber composite for wound dressing and drug delivery. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 26(4), 252-263.
- Kahler, B., Mistry, S., Moule, A., Ringsmuth, A. K., Case, P., Thomson, A., & Holcombe, T. (2014). Revascularization outcomes: a prospective analysis of 16 consecutive cases. *Journal of endodontics*, 40(3), 333-338.
- Kahler, B., & Rossi-Fedele, G. (2016). A review of tooth discoloration after regenerative endodontic therapy. *Journal of endodontics*, 42(4), 563-569.
- Kerkis, I., Kerkis, A., Dozortsev, D., Stukart-Parsons, G. C., Massironi, S. M. G., Pereira, L. V., . . . Cerruti, H. F. (2006). Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. *Cells Tissues Organs*, 184(3-4), 105-116.
- Kim, J.-H., Kim, Y., Shin, S.-J., Park, J.-W., & Jung, I.-Y. (2010). Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *Journal of endodontics*, 36(6), 1086-1091.
- Kim, S., Malek, M., Sigurdsson, A., Lin, L., & Kahler, B. (2018). Regenerative endodontics: a comprehensive review. *International endodontic journal*, 51(12), 1367-1388.
- Kim, Y.-S., Min, K.-S., Jeong, D.-H., Jang, J.-H., Kim, H.-W., & Kim, E.-C. (2010). Effects of fibroblast growth factor-2 on the expression and regulation of chemokines in human dental pulp cells. *Journal of endodontics*, 36(11), 1824-1830.
- Kluwe, J., Mencin, A., & Schwabe, R. F. (2009). Toll-like receptors, wound healing, and carcinogenesis. *Journal of molecular medicine*, 87(2), 125.
- Lambricht, L., De Berdt, P., Vanacker, J., Leprince, J., Diogenes, A., Goldansaz, H.,...Des Rieux, A. (2014). The type and composition of alginate and hyaluronic-based hydrogels influence the viability of stem cells of the apical papilla. *Dental Materials*, 30(12), e349-e361.
- Langer, R., & Vacanti, J. P. (1993). Tissue engineering. *Science (New York, NY)*, 260(5110), 920-926.
- Liu, P., Li, K., & Xu, S. (2016). The future of iPS cells in advancing regenerative medicine. *Genetics Research*, 98.
- Marconyak Jr, L. J., Kirkpatrick, T. C., Roberts, H. W., Roberts, M. D., Aparicio, A., Himel, V. T., & Sabey, K. A. (2016). A comparison of coronal tooth discoloration elicited by various endodontic reparative materials. *Journal of endodontics*, 42(3), 470-473.
- Miura, M., Gronthos, S., Zhao, M., Lu, B., Fisher, L. W., Robey, P. G., & Shi, S. (2003). SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(10), 5807-5812.
- Mullane, E. M., Dong, Z., Sedgley, C., Hu, J.-C., Botero, T., Holland, G., & Nör, J. (2008). Effects of VEGF and FGF2 on the revascularization of severed human dental pulps. *Journal of dental research*, 87(12), 1144-1148.
- Murray, P. E., Garcia-Godoy, F., & Hargreaves, K. M. (2007). Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *Journal of endodontics*, 33(4), 377-390.
- Murry, C. E., & Keller, G. (2008). Differentiation of embryonic stem cells to clinically relevant populations: lessons from embryonic development. *Cell*, 132(4), 661-680.
- Nakashima, M. (1994). Induction of dentin formation on canine amputated pulp by recombinant human bone morphogenetic proteins (BMP)-2 and-4. *Journal of dental research*, 73(9), 1515-1522.
- Nakashima, M., & Akamine, A. (2005). The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. *Journal of endodontics*, 31(10), 711-718.
- Nosrat, A., Seifi, A., & Asgary, S. (2011). Regenerative endodontic treatment (revascularization) for necrotic immature permanent molars: a review and report of two cases with a new biomaterial. *Journal of endodontics*, 37(4), 562-567.

- Nygaard-Östby, B., & Hjortdal, O. (1971). Tissue formation in the root canal following pulp removal. *European Journal of Oral Sciences*, 79(3), 333-349.
- Odelberg, S. J. (2002). *Inducing cellular dedifferentiation: a potential method for enhancing endogenous regeneration in mammals*. Paper presented at the Seminars in cell & developmental biology.
- Okita, K., Ichisaka, T., & Yamanaka, S. (2007). Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *nature*, 448(7151), 313-317.
- Okita, K., Nagata, N., & Yamanaka, S. (2011). Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Circulation research*, 109(7), 720-721.
- Orsini, G., Pagella, P., Putignano, A., & Mitsiadis, T. A. (2018). Novel biological and technological platforms for dental clinical use. *Frontiers in physiology*, 9, 1102.
- Orti, V., Collart-Dutilleul, P.-Y., Piglionico, S., Pall, O., Cuisinier, F., & Panayotov, I. (2018). Pulp regeneration concepts for nonvital teeth: from tissue engineering to clinical approaches. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 24(6), 419-442.
- Oviedo, N. J., & Beane, W. S. (2009). *Regeneration: The origin of cancer or a possible cure?* Paper presented at the Seminars in cell & developmental biology.
- Ozeki, N., Hase, N., Higuchi, N., Hiyama, T., Yamaguchi, H., Kawai, R.,...Mogi, M. (2017). Gelatin scaffold combined with bone morphogenetic protein-4 induces odontoblast-like cell differentiation involving integrin profile changes, autophagy-related gene 10, and Wnt5 sequentially in human induced pluripotent stem cells. *Differentiation*, 93, 1-14.
- Ozeki, N., Mogi, M., Kawai, R., Yamaguchi, H., Hiyama, T., Nakata, K., & Nakamura, H. (2013). Mouse-induced pluripotent stem cells differentiate into odontoblast-like cells with induction of altered adhesive and migratory phenotype of integrin. *PLoS one*, 8(11), e80026.
- Östby, B. N. (1961). The role of the blood clot in endodontic therapy an experimental histologic study. *Acta Odontologica Scandinavica*, 19(3-4), 323-353.
- Pagella, P., Neto, E., Lamghari, M., & Mitsiadis, T. A. (2015). Investigation of orofacial stem cell niches and their innervation through microfluidic devices. *European Cells and Materials (ECM)*, 29, 213-223.
- Parirokh, M., & Torabinejad, M. (2010). Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part III: clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *Journal of endodontics*, 36(3), 400-413.
- Petrino, J. A., Boda, K. K., Shambarger, S., Bowles, W. R., & McClanahan, S. B. (2010). Challenges in regenerative endodontics: a case series. *Journal of endodontics*, 36(3), 536-541.
- Raddall, G., Mello, I., & Leung, B. M. (2019). Biomaterials and scaffold design strategies for regenerative endodontic therapy. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 317.
- Rafter, M. (2005). Apexification: a review. *Dental Traumatology*, 21(1), 1-8.
- Reynolds, K., Johnson, J., & Cohenca, N. (2009). Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discolouration: a case report. *International endodontic journal*, 42(1), 84-92.
- Rosa, V., Della Bona, A., Cavalcanti, B. N., & Nör, J. E. (2012). Tissue engineering: from research to dental clinics. *Dental Materials*, 28(4), 341-348.
- Rosenberg, B., Murray, P. E., & Namerow, K. (2007). The effect of calcium hydroxide root filling on dentin fracture strength. *Dental Traumatology*, 23(1), 26-29.
- Rutherford, R. B. (2001). BMP-7 gene transfer to inflamed ferret dental pulps. *European Journal of Oral Sciences*, 109(6), 422-424.
- Rutherford, R. B., & Gu, K. (2000). Treatment of inflamed ferret dental pulps with recombinant bone morphogenetic protein-7. *European Journal of Oral Sciences*, 108(3), 202-206.
- Sakai, V., Zhang, Z., Dong, Z., Neiva, K., Machado, M., Shi, S., Nör, J. (2010). SHED differentiate into functional odontoblasts and endothelium. *Journal of dental research*, 89(8), 791-796.
- Saucedo, J. M., Yaffe, M. A., Berschback, J. C., Hsu, W. K., & Kalainov, D. M. (2012). Platelet-rich plasma. *Journal of Hand Surgery*, 37(3), 587-589.
- Seki, D., Takeshita, N., Oyanagi, T., Sasaki, S., Takano, I., Hasegawa, M., & Takano-Yamamoto, T. (2015). Differentiation of Odontoblast-Like Cells From Mouse Induced Pluripotent Stem Cells by Pax9 and Bmp4 Transfection. *Stem Cells Translational Medicine*, 4(9), 993-997.
- Seo, B.-M., Miura, M., Gronthos, S., Bartold, P. M., Batouli, S., Brahimi, J., . . . Shi, S. (2004). Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *The Lancet*, 364(9429), 149-155.
- Shiehzhadeh, V., Aghmasheh, F., Shiehzhadeh, F., Joulae, M., Kosarieh, E., & Shiehzhadeh, F. (2014). Healing of large periapical lesions following delivery of dental stem cells with an injectable scaffold: new method and three case reports. *Indian Journal of Dental Research*, 25(2), 248.
- Shimabukuro, Y., Ueda, M., Ozasa, M., Anzai, J., Takedachi, M., Yanagita, M.,...Murakami, S. (2009). Fibroblast growth factor-2 regulates the cell function of human dental pulp cells. *Journal of endodontics*, 35(11), 1529-1535.
- Shrestha, S., Diogenes, A., & Kishen, A. (2015). Temporal-controlled dexamethasone releasing chitosan nanoparticle system enhances odontogenic differentiation of stem cells from apical papilla. *Journal of endodontics*, 41(8), 1253-1258.
- Shrestha, S., Torneck, C. D., & Kishen, A. (2016). Dentin conditioning with bioactive molecule releasing nanoparticle system enhances adherence, viability, and differentiation of stem cells from apical papilla. *Journal of endodontics*, 42(5), 717-723.
- Six, N., Lasfargues, J.-J., & Goldberg, M. (2002). Differential repair responses in the coronal and radicular areas of the exposed rat molar pulp induced by recombinant human bone morphogenetic protein 7 (osteogenic protein 1). *Archives of oral biology*, 47(3), 177-187.
- Sonoyama, W., Liu, Y., Fang, D., Yamaza, T., Seo, B.-M., Zhang, C.,...Shi, S. (2006). Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS one*, 1(1), e79.
- Sonoyama, W., Liu, Y., Yamaza, T., Tuan, R. S., Wang, S., Shi, S., & Huang, G. T.-J. (2008). Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *Journal of endodontics*, 34(2), 166-171.
- Souto, G. D., Farhane, Z., Casey, A., Efeoglu, E., McIntyre, J., & Byrne, H. J. (2016). Evaluation of cytotoxicity profile and intracellular localisation of doxorubicin-loaded chitosan nanoparticles. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 408(20), 5443-5455.

- Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126(4), 663-676.
- Takeuchi, N., Hayashi, Y., Murakami, M., Alvarez, F., Horibe, H., Iohara, K., . . . Nakashima, M. (2015). Similar in vitro effects and pulp regeneration in ectopic tooth transplantation by basic fibroblast growth factor and granulocyte-colony stimulating factor. *Oral diseases*, 21(1), 113-122.
- Tong, H. J., Rajan, S., Bhujel, N., Kang, J., Duggal, M., & Nazzal, H. (2017). Regenerative Endodontic Therapy in the Management of Nonvital Immature Permanent Teeth: A Systematic Review—Outcome Evaluation and Meta-analysis. *Journal of endodontics*, 43(9), 1453-1464.
- Torabinejad, M., Nosrat, A., Verma, P., & Udochukwu, O. (2017). Regenerative endodontic treatment or mineral trioxide aggregate apical plug in teeth with necrotic pulps and open apices: a systematic review and meta-analysis. *Journal of endodontics*, 43(11), 1806-1820.
- Torabinejad, M., & Turman, M. (2011). Revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex by using platelet-rich plasma: a case report. *Journal of endodontics*, 37(2), 265-268.
- Trevino, E. G., Patwardhan, A. N., Henry, M. A., Perry, G., Dybdal-Hargreaves, N., Hargreaves, K. M., & Diogenes, A. (2011). Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. *Journal of endodontics*, 37(8), 1109-1115.
- van der Kooy, D., & Weiss, S. (2000). Why stem cells? *Science*, 287(5457), 1439-1441.
- Venkatesan, J., Nithya, R., Sudha, P. N., & Kim, S.-K. (2014). Role of alginate in bone tissue engineering. In *Advances in food and nutrition research* (Vol. 73, pp. 45-57): Elsevier.
- Wang, W., Dang, M., Zhang, Z., Hu, J., Eyster, T. W., Ni, L., & Ma, P. X. (2016). Dentin regeneration by stem cells of apical papilla on injectable nanofibrous microspheres and stimulated by controlled BMP-2 release. *Acta biomaterialia*, 36, 63-72.
- Webber, R. (1984). Apexogenesis versus apexification. *Dental Clinics of North America*, 28(4), 669.
- Yadlapati, M., Bigueti, C., Cavalla, F., Nieves, F., Bessey, C., Bohluli, P., . . . Silva, R. M. (2017). Characterization of a vascular endothelial growth factor-loaded bioresorbable delivery system for pulp regeneration. *Journal of endodontics*, 43(1), 77-83.
- Yang, J.-w., Zhang, Y.-f., Sun, Z.-y., Song, G.-t., & Chen, Z. (2015). Dental pulp tissue engineering with bFGF-incorporated silk fibroin scaffolds. *Journal of biomaterials applications*, 30(2), 221-229.
- Yang, J., Yuan, G., & Chen, Z. (2016). Pulp regeneration: current approaches and future challenges. *Frontiers in physiology*, 7, 58.
- Yokoi, T., Saito, M., Kiyono, T., Iseki, S., Kosaka, K., Nishida, E., . . . Noguchi, T. (2007). Establishment of immortalized dental follicle cells for generating periodontal ligament in vivo. *Cell and tissue research*, 327(2), 301-311.
- Yoldaş, S. E., Bani, M., Atabek, D., & Bodur, H. (2016). Comparison of the potential discoloration effect of bioaggregate, biodentine, and white mineral trioxide aggregate on bovine teeth: in vitro research. *Journal of endodontics*, 42(12), 1815-1818.
- Zhang, L., Morsi, Y., Wang, Y., Li, Y., & Ramakrishna, S. (2013). Review scaffold design and stem cells for tooth regeneration. *Japanese Dental Science Review*, 49(1), 14-26.