**REVASKÜLARİZASYON TEDAVİLERİNİN ARDINDAN**

**DOKU İYİLEŞMESİ**

**Tuğba BEZGİN\* Hayriye SÖNMEZ\*\***

**\* Doç. Dr., Ankara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı,**

**e-mail: cetintugba@yahoo.com**

**\*\* Prof. Dr., Ankara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı,**

**e-mail: hayriyesonmez@hotmail.com**

**TISSUE HEALING AFTER REVASCULARIZATION TREATMENTS**

**Özet**

Devital genç sürekli dişlerde uygulanan revaskülarizasyon tedavisi ile bu dişlerde sağkalım oranı oldukça artmıştır. Ancak, klinik endodontide büyük bir adım sayılabilecek bu tedavi yöntemi ile henüz histolojik olarak istenen başarı elde edilememiştir. Bu derlemede, devital genç sürekli dişlerde uygulanan rejeneratif endodontik tedaviler sonrasında gerçekleşen tamir mekanizması hücresel ve moleküler düzeyde ele alınmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Genç sürekli diş,Revaskülarizasyon, Kök hücre, Tamir rejenerasyonu

**Summary**

Revascularization treatment of necrotic young permanent teeth has significantly increased survival rate in such teeth. However, this treatment method, which can be considered as a huge step forward in clinical endodontics, has yet to provide the desired success in histological terms. In this review, the repair mechanism in post regenerative endodontic treatment on necrotic young permanent teeth is explored at cellular and molecular level.

Key words: Immature permanent tooth, Revascularization, Stem cell, Reperative regeneration

Rejeneratif endodonti, zarar gören pulpa ve periradiküler dokuların fizyolojik fonksiyonlarını geri kazandırmak amacıyla uygulanan biyolojik bazlı tedavilerdir.1-4 Diş kaynaklı kök hücrelerin odontoblast benzeri hücrelere diferansiye olabilmesinin keşfedilmesinin ardından rejeneratif uygulamalar, kanal tedavisi gereksinimi olan genç sürekli dişlerin tedavisinde oldukça popülerlik kazanmıştır.5-8 Bu tedavilerle; doku homeostazının sağlanması sayesinde kök maturasyonunun ve lokal immün mekanizmanın devam etmesi ile dişlerde sağkalım oranını artmaktadır.1,9-11

Revaskülarizasyon tedavisi, klinik endodontide büyük bir adım olmasına rağmen, histolojik açıdan istenen başarının sağlanamaması en büyük dezavantajıdır. Apikal papil kök hücrelerin (SCAPs) ve pulpa kaynaklı kök hücrelerin (DPSCs); uygun sinyal moleküller ve besin varlığında odontoblast benzeri hücrelere diferansiye oldukları ve dentin benzeri mineralize doku oluşturdukları gösterilmesine rağmen,12,13 klinik ortamda günümüze kadar uygulanan yöntemlerle henüz istenen pulpa-dentin rejenerasyonu sağlanamamıştır.14-19

Langer ve Vacanti tarafından 1993 yılında tanıtılan doku mühendisliği üç temel öğeye ihtiyaç duyar; kök hücreler, doku iskelesi ve sinyal moleküller. Rejeneratif sürecin devam edebilmesi için ayrıca dokuda kesintisiz bir kan akımı olmalıdır.20 Rejeneratif endodontide klinik süreç dikkate alındığında; kanalda apikalden kanatma yoluyla oluşan pıhtı ile doku iskelesi kurulurken, aynı zamanda apikal bölgedeki kök hücrelerin kanal içine migrasyonu sağlanmaktadır.21,22 Aynı zamanda kanal içinde; pıhtıda varolan ve dezenfeksiyon sırasında EDTA solüsyonunun dentinden salınmasını sağladığı büyüme faktörleri olabileceği gibi doku iskelesi olarak kullanılabilen otolog fibrin matriksler de büyüme faktörleri içermektedir.4,5,23 Böylece; protokole uygun gerçekleştirilen revaskülarizasyon tedavilerinde rejenerasyon triadı elde edilmiş olmaktadır. Ancak; histolojik incelemeler; kanal içinde biriken sert dokunun kemik ve sement kaynaklı olduğunu göstermektedir. Kanal içindeki yumuşak doku ise periodontal ligament kaynaklıdır.14-19

**Revaskülarizasyon tedavilerinde kök hücrelerin rolü**

Kendini yenileme özelliği olan ve farklı hücrelere diferansiye olabilen kök hücreler, rejeneratif süreçte, rejenere olan dokuların bir parçası olarak ve/veya çevre dokuların hücresel aktivitelerini yönlendiren sinyal moleküllerin salımını sağlayarak görev alırlar.12,24,25 Pulpa rejenerasyonunda; apikal kanatma ya da uygun kemotaktik faktörler sayesinde kök kanalına gelen kök hücreler hipotezde; gerekli hücrelere diferansiye olurlar ve kanal içinde dentin benzeri sert dokuların inşasında görev alırlar.1,8,26 Ancak, yapılan çalışmalarda herhangi bir tübüler/atübüler yapıda dentin benzeri yapıya rastlanmamıştır. Kök duvarlarındaki kalınlaşmayı kemik ve sement benzeri bir sert doku sağlamaktadır. Bu bulgu, kanal içinde prolifere olması istenen SCAP ve DPSC’lerin aksine periodonsiyum kaynaklı hücrelerin ortama yerleştiğini ortaya koymaktadır.3,22

Rejeneratif tedavilerin ardından meydana gelen iyileşme mekanizmalarını anlayabilmek için genç sürekli dişlerin pulpa ve çevre dokularının inflamasyona karşı cevabının bilinmesi gerekmektedir.4,27 Apikal papil, gelişmekte olan dişin apeksinde bulunan bağ dokusudur. Diş gelişimi sırasında; odontoblastlar primer dentini oluşturdukça, merkezde yer alan dental papil zamanla kökün apikal kısmında sınırlı kalmaktadır. Bu aşamadan sonra apikal papil adını alan bu doku, dentinojenik ve nörojenik hücrelere diferansiye olabilen kök hücreler içermektedir.5,6,8 Bu yapının canlılığını koruması rejeneratif tedavilerin başarısı için çok kritiktir. Ancak, irreversibl pulpitis ya da nekroz gelişen genç sürekli dişlerde apikal papilin ciddi şekilde etkilendiği görülmüştür.27 Koronal pulpadaki enfeksiyonun dahi periradikuler dokulara zarar verebildiği bulgulanmıştır. Pulpa açısından değerlendirildiğinde, çürüğün dentine geçmesinden itibaren, hem çürüğe komşu pulpada hem de kök pulpasında odontoblastik tabakada bozunmalar tespit edilmiştir. Bakteri toksinleri, inflamatuar medyatörler ve sitokinlerin konnektif pulpa dokusu boyunca ilerleyerek kök kanal duvarlarındaki odontoblast hücrelerinin etkilenmesine neden olduğu düşünülmektedir. Pulpanın nekroze olduğu olgularda ise; kök kanal duvarlarında rezorpsiyon alanlarına, bu alanlarda kolonize olmuş odontoklastlara ve bakteriyel biofilme rastlanmıştır.27 Bu sonuçlar, rejeneratif tedavilerde istenilenin aksine neden DPSC ve SCAP’ların rol oynamadığını açıklamaktadır.

Otolog fibrin matriksler gibi büyüme faktöründen zengin doku iskelelerinin nekroz olgularında dahi kanal içine kök hücre proliferasyonunu arttıracağı düşünülmesine rağmen, histolojik olarak yapılan incelemeler bunun aksini göstermiştir.16,28 Klinik olarak da konvansiyonel apikal kanatma yöntemine göre daha fazla başarı elde edilememiştir.29 Lolato ve ark.,8 bunun nedenini fibrin matrikslerdeki lökosit varlığına bağlamış, bu hücrelerin kanal içinde neden olabileceği aşırı immün cevabın iyileşmeyi geciktirdiğini savunmuşlar ve lökosit içermeyen “trombositten zengin büyüme faktörünün (PRGF)” doku iskelesi olarak kullanılmasını önermişlerdir. Ancak, henüz literatürde bu ajanın kullanıldığı bir olgu ya da çalışmaya rastlanmamıştır.

Nosrat ve ark.;19 kronik enfeksiyonun pulpanın rejenere olabilme kapasitesini azalttığı, rejenere olabilecek kök hücrelere zarar verdiği hipoteziyle, ortodontik amaçla çekilecek iki sağlam premolar dişte revaskülarizasyon tedavisi uygulamış ve 4 ay sonra yaptıkları histolojik incelemede diğer çalışmalarda elde edilenden farklı bir yapıya rastlamamışlardır. Enfeksiyondan etkilenmemiş, dezenfeksiyon aşamalarının uygulanmasına gerek olmayan iki sağlam dişte dahi kanal içinde dentin benzeri değil, kemik kaynaklı sert doku oluşumu olduğu tespit edilmiştir.

Tüm bu bilgilerin ışığında; endojen kök hücre kaynaklarıyla uygulanan günümüz rejeneratif tedavi protokolü sonucunda istenen histolojik başarının elde edilemeyeceği açıkça görülmektedir. İleri dönemde yapılacak çalışmalarla, eksojen kaynaklı kök hücrelerin uygun doku iskelesi desteği ile üretilip kök kanallarına direkt olarak uygulanmasıyla pulpa-dentin kompleksinin rejenerasyonu sağlanabileceği düşünülmektedir.3,30 Ancak, bu uygulamaların maliyeti ve özel ekipman gerektirmesi açısından rutin klinik kullanıma geçebilmeleri şüphelidir.

**Revaskülarizasyon tedavilerinde dezenfeksiyon ve doku iskelesinin rolü**

Matür dişlerde uygulanan kanal tedavilerinde kemomekanik dezenfeksiyonun ardından kanalda kalan bakteriler iyi bir kanal dolgusu ve sızdırmaz bir koronal restorasyonla etkisiz hale getirilebilirken, revaskülarizasyon tedavilerinde kanalın içinde oluşan pıhtı rezidüel bakterilerin tekrar prolifere olması ve biyofilm oluşturması için uygun ortam hazırlanmaktadır.31,32 Bu nedenle kök kanalında uzun dönem aseptik koşullar sağlanmalıdır. Ancak, bu tedavi prosedüründe mekanik preparasyon yapılamaması, sadece kimyasal dezenfeksiyona bel bağlanması en büyük dezavantajdır. Verma ve ark.32, fermetler üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında, kanalda rezidüel bakteri varlığının revaskülarizasyon tedavisi sonrasında kök maturasyonunu anlamlı şekilde negatif yönde etkilediğini tespit etmişlerdir. Bu nedenle, en ideal oranda dezenfeksiyonun kanal ve periradiküler dokulardaki vital hücrelere zarar vermeden gerçekleştirilmesi önemlidir.

Genç sürekli dişlerde, enfekte kök kanallarında bakterilen dentin tübüllerinin derinliklerine kadar penetre olabildiği bilinmektedir.33 Ricucci ve ark.27, pulpa nekrozu gelişen olgularda, pulpa odası ve kök kanallarında yoğun bakteri kolonizasyonu ve değişik kalınlıklarda biyofilm alanlarının varlığını tespit etmişlerdir. Bu bağlamda, bazı araştırmacılar, ince kök kanal duvarlarını zayıflatmayacak, daha sonra kanala yerleştirilecek antimikrobiyal ajanlara yardımcı olacak retantif yollar oluşturmak amacıyla hafif bir mekanik preparasyon yapılmasının biyofilm odakarının uzaklaştırılmasında yardımcı olacağını savunmaktadır.22,31,34 Fakat, kanal içinde vital doku olduğu düşünülüyorsa kesinlikle mekanik preparasyon yapılmamalıdır.34

Rejeneratif endodontide, dezenfeksiyon işlemi sodyum hipoklorit (NaOCl) irigasyonu ile başlamaktadır. Tedavi protokünde vazgeçilmez bir basamak olsa da hücre canlılığı üzerine negatif etkileri olması büyük bir dezavantajdır. %3 konsantrasyona kadar hücre canlılığında anlamlı bir düşüşe neden olmazken, %6 konsantrasyonda hücre sağkalımı %20 oranına düşmektedir.35 Ancak, NaOCl’in ardından EDTA kullanımı bu yan etkileri tersine çevirebilmektedir.35,36 Bu nedenle güncellenen revaskülarizasyon protokolünde, EDTA kullanımı sadece ikinci seansta değil, NaOCl irigasyonunun ardından ilk seansda da önerilmektedir.37

İrigasyon işlemlerinin ardından en sık kullanılan kimyasal ajan üçlü ya da ikili antibiyotik kombinasyonlarıdır. Ancak, son dönemde apikal papil bölgesine difüze olarak ya da kanaldan tam olarak uzaklaştırılamadıkları için kök hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermeleri nedeniyle kullanımları azalmış,38,39 Ca(OH)2 daha popüler hale gelmiştir.39-41 Jadhav42, her ne kadar sitotksik etkisi çok az görülse de Ca(OH)2 patlarının da kök ucunda var olabilecek olan Hertwig epitelyal kök kını artıklarına zarar vermemesi ve sebep olduğu koagülasyon nekrozu ile kanamayı engellememesi için kökün sadece koronal üçlüsüne yerleştirilmesini önermiştir.

AAE37, antibiyotik patlarının sitotoksik etkilerini en aza indirmek için 0,1-1mg/ml oranında kullanımlarını önermektedir. Son dönem yapılan çalışmalarda ise; düşük konsantrasyonda uygulanan antibiyotik patlarının ya da Ca(OH)2 patının kanal içinde yeterli dezenfeksiyonu sağlayamadığı rapor edilmiştir.32,43,44 Rezidüel bakterilerin konağın immün sistemini aktive ederek kanal içine migre olmuş kök hücrelerin ölümüne neden olduğu düşünülmektedir.44 Bu nedenle, yavaş salım yapan ilaç sistemlerinin doku iskelesi olarak kullanımları gündeme gelmiş ve in-vitro ortamda kök hücreler üzerinde yapılan çalışmalarda sitotoksik etkilerinin pat halinde kullanılan anitibiyotiklere göre çok daha az olduğu tespit edilmiştir.43,45 Bu sayede hem dezenfeksiyon hem de doku iskelesi oluşumu bir aşamada sağlanabilecektir. Bu konudaki araştırmalar devam etmektedir.

Revaskülarizasyon uygulamalarında uygun oranda dezenfeksiyon ve sitotoksisite arasındaki denge henüz günümüz yöntemleriyle sağlanabilmiş değildir. Bu bağlamda, yavaş salım yapan sistemlerin doku iskelesi olarak kullanımları ve hatta bu sistemlere büyüme faktörleri ve eksojen kök hücrelerin eklenmesi ile ileriki dönemlerde istenilen histolojik düzeydeki başarılar elde edilebilir.

**Sonuç**

Bu konuda yapılan yoğun in-vivo/in-vitro çalışmalar sonucunda, devital genç sürekli dişlerde uygulanan rejeneratif endodontik tedaviler sonrasında gerçekleşen tamir mekanizması hücresel ve moleküler düzeyde ortaya çıkmaya başlamıştır. Bu süreç ne kadar iyi çözümlenebilirse başarı oranı o kadar artacaktır.

**KAYNAKLAR**

1. Murray PE, Garcia-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. J Endod 2007; 33: 377-90.

2. Geisler TM. Clinical considerations for regenerative endodontic procedures. Dent Clin North Am 2012; 56: 603-26.

3. Kim SG, Kahler B, Lin LM. Current developments in regenerative endodontics. Curr Oral Health Rep 2016; 3(4): 293-301.

4. Smith AJ, Duncan HF, Diogenes A, Simon S, Cooper PR. Exploiting the bioactive properties of the dentin-pulp complex in regenerative endodontics. J Endod 2016; 42(1): 47-56.

5. Huang GTJ, A paradigm shift in endodontic management of immature teeth: Conservation of stem cells for regeneration. J Dent 2008; 36 (6): 379-86.

6. Hargreaves KM, Geisler T, Henry M, Wang Y. Regeneration potential of the young permanent tooth: what does the future hold? J Endod 2008; 34(7 Suppl): S51-6.

7. Rodriquez-Lozano FJ, Bueno C, Insausti CL, Meseguer L, Ramirez MC, Blanquer M, Marin N, ve ark. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues. Int Endod J 2011; 44(9): 800-6.

8. Lolato A, Bucchi C, Taschieri S, Kabbaray AE, Fabbro MD. Platelet concentrates for revitalization of immature necrotic teeth: a systematic review of the clinical studies. Platelets 2016; 27(5): 383-92.

9. Shah N, Logani A, Bhaskar U, Aggarwal V. Efficacy of revascularization to induce apexification/apexogenesis in infected, nonvital, immature teeth: a pilot clinical study. J Endod 2008; 34(8): 919-25.

10. Jeeruphan T, Jantarat J, Yanpiset K, Suwannapan L, Khewsawai P, Hargreaves KM. Mahidol study 1: Comparison of a radiographic and survival outcomes of immature teeth treated with either regenerative endodontic or apexification methods: a retrospective study. J Endod 2012; 38(10): 1330-6.

11. Kahler B, Mistry S, Moule A, Ringsmuth AK, Case P, Thomson A, Holcombe T. Revascularization outcomes: a retrospective analysis of 16 consecutive cases. J Endod 2014; 40(3): 333-8.

12. Sonoyama W, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, Huang GT. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth. J Endod 2008; 34(2): 166-71.

13. Jiang L, Peng WW, Li LF, Yang Y, Zhu YQ. Proliferation and multilineage potential of CXCR4-positive human dental pulp cells in vitro. J Endod 2012; 38(5): 642-7.

14. Lin LM, Rosenberg PA. Repair and regeneration in endodontics. Int Endod J 2011; 44(10): 889-906.

15. Shimizu E, Albert J, Alobaid AS, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, ve ark. Clinical, radiographic, and histological observation of a human immature permanent tooth with chronic apical abbscess after revitalization treatment. J Endod 2013; 39(8): 1078-83.

16. 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(1): 138-44.

17. Becerra P, Ricucci D, Loghin S, Gibbs JL, Lin LM. Histologic study of a human immature permanent premolar with chronic apical abscess after revascularization/ revitalization. J Endod 2014; 40(1): 133-9.

18. Lei L, Chen Y, Zhou R, Huang X, Cai Z. Histologic and immunuhistochemical findings of a human immature permanent tooth with apical periodontitis after regenerative endodontic therapy. J Endod 2015; 41(7): 1172-9.

19. Nosrat A, Kolahdouzan A, Hosseini F, Mehrizi EA, Verma P, Torabinejad M. Histologic outcomes of uninfected human immature teeth treated with regenerative endodontics: 2 case reports. J Endod 2015; 41(10): 1725-9.

20. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. Science 1993; 260(5110): 920-6.

21. 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(2): 133-8.

22. Galler KM. Clinical procedures for revitalization: current knowledge and considerations. Int Endod J 2016; 49(10): 926-36.

23. Mullane EM, Dong Z, Sedgley CM, Hu JC, Botero TM, Holland GR, Nör JE. Effect of VEGF and FGF2 on the revascularization of severed human dental pulps. J Dent Res 2008; 87(12): 1144-8.

24. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A ve ark. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. J Dent Res 2002; 81(8): 531-5.

25. Kim SG, Zhou J, Solomon C, Zheng Y, Suzuki T, Chen M ve ark. Effects of growth factors on dental stem/progenitor cells. Dent Clin North Am 2012; 56(3): 563-75.

26. Diogenes A, Ruparel NB, Shiloah Y, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a way forward. J Am Dent Assoc 2016; 147(5): 372-80.

27. Ricucci D, Siqueira JF Jr, Loghin S, Lin LM. Pulp and apical tissue response to deep caries in immature teeth: a histologic and histobacteriologic study. J Dent 2017; 56(1): 19-32.

28. Zhang DD, Chen X, Bao ZF, Chen M, Ding ZJ, Zhong M. Histologic comparison between platelet-rich plasma and blood clot in regenerative endodontic treatment: an animal study. J Endod 2014; 40(9): 1388-93.

29. Bezgin T, Yılmaz AD, Celik BN, Kolsuz ME, Sönmez H. Efficacy of platelet-rich plasma as a scaffold in regenerative endodontic treatment. J Endod 2015; 41(1): 36-44.

30. Farhad AR, Shokraneh A, Shekarchizade N. Regeneration or replacement? A case report and review of literature. Dent Traumatol 2016; 32(1): 71-9.

31. Fouad AF, Verma P. Healing after regenerative procedures with and without pulpal infection. J Endod 2014; 40(4 Suppl): S58-64.

32. Verma P, Nosrat A, Kim JR, Price JB, Wang P, Bair E, Xu HH, Fouad AF. Effect of residual bacteria on the outcome of pulp regeneration in vivo. J Dent Res 2017; 96(1): 100-6.

33. Kakoli P, Nandakumar R, Romberg E, Arola D, Fouad AF. The effect of age on bacterial penetration of radicular dentin. J Endod 2009; 35: 78-81.

34. Lin LM, Ricucci D, Huang GT. Regeneration of the dentine-pulp complex with revitalization/revascularization therapy: challenges and hopes. Int Endod J 2014; 47(8): 713-24.

35. Martin DE, De Almedia JFA, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, Diogenes A. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. J Endod 2014; 40: 51-5.

36. Arslan H, Akçay M, Çapar ID, Ertaş H, Ok E, Uysal B. Efficacy of needle irrigation, EndoActivator, and photon-initiated phptpacoustic streaming technique on removal of double and triple antibiotic pastes. J Endod 2014; 40(9): 1439-42.

37. American Association of Endodontics. Clinical considerations for a regenerative procedure. [www.aae.org](http://www.aae.org/), Erişim tarihi: 27.12.2016.

38. 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(10): 1372-5.

39. Berkhoff JA, Chen PB, Teixeria FB, Diogenes A. Evaluation of triple antibiotic paste removal by different irrigation procedures. J Endod 2014; 40(8): 1172-7.

40. Althumairy RI, Teixeira FB, Diogenes A. Effect of dentin conditioning with intracanal medicaments on survival of stem cells of apical papilla. J Endod 2014; 40(4): 521-5.

41. Kitikuson P, Srisuwan T. Attachment ability of human apical papilla cells to root dentin surfaces treated with either 3Mix or calcium hydroxide. J Endod 2016; 42(1): 89-94.

42. Jadhav GR, Mittal P. Decoding of disinfection regime used in revascularization. J Nat Sci Biol Med 2016; 7(1): 113-4.

43. Kamocki K, Nör JE, bottino MC. Dental pulp stem cell responses to novel antibiotic-containing scaffolds for regenerative endodontics. Int Endod J 2015; 48(10): 1147-56.

44. Latham J, Fong H, Jewett A, Johnson JD, Paranipe A. Disinfection efficacy of current regenerative endodontic protocols in simulated necrotic immature permanent teeth. J Endod 2016; 42(8): 1218-25.

45. Bottino MC, Kamocki K, Yassen GH, Platt JA, Vail MM, Ehrlich Y, Spolnik KJ, Gregory RL. Bioactive nanofibrous scaffolds for regenerative endodontics. J Dent Res 2013; 92(11): 963-9.