



REVIEW ARTICLE

A General Outlook to Regenerative Pulp Therapy

*Kübra TONGUÇ ALTIN¹, Elif SUNGURTEKİN EKÇİ¹, Elif Beril GÜRDOĞAN¹,
Dilşad ŞENÖZ²*

1 Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Yeditepe University, Istanbul, Turkey

2 Private Practice, Pediatric Dentistry, İstanbul, Turkey

A R T I C L E

Article history:

Received 22.02.2015

Accepted 07.10.2015

Keywords:

Regenerative Endodontics, Dental Pulp,
Pediatric Dentistry

A B S T R A C T

Withing the last 10 years, the research regarding stem cell biology and tissue engineering has reaped many rewards in the field of dentistry. The goal of regenerative endodontic therapy is the regeneration of a healthy and functional pulp-dentin complex. With the development of successful materials such as mineral trioxide aggregate (MTA) and the use of the concept of tissue engineering, treating necrotic immature permanent teeth and stimulating the continuation of root-surrounding tissue formation has been made possible. Current stem cell research has also shown promising results and continues to show progress in the regeneration of dental and surrounding tissue. Since the ethical aspect of the use of stem cells is still in question, we have yet to see the potential of these materials in clinical practice. In this review, regenerative endodontic treatment procedures, materials and developments are discussed in detail.

Keywords: Regenerative Endodontics, Dental Pulp, Pediatric Dentistry



DERLEME MAKALESİ

Rejeneratif Pulpa Tedavilerine Genel Bir Bakış

Kübra TONGUÇ ALTIN¹, Elif SUNGURTEKİN EKÇİ¹, Elif Beril GÜRDOĞAN¹, Dilşad ŞENÖZ²

1 Pedodonti Anabilim Dalı, Diş Hekimliği Fakültesi, Yeditepe Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

2 Çocuk Diş Hekimi, Serbest Çalışan, İstanbul, Türkiye

MAKALE BİLGİ

Makale geçmişi:

Alınan 22.02.2015

Kabul Edilen 07.10.2015

Anahtar Kelimeler:

Rejeneratif Endodonti, Dental Pulpa
Çocuk Diş Hekimliği

ÖZET

Son 10 yıl içerisinde, kök hücre biyolojisi ve doku mühendisliği üzerine yapılan çalışmalar diş hekimliği alanını olumlu bir yönde etkilemiştir. Rejeneratif endodontik tedavinin amacı, sağlıklı ve fonksiyonel bir dentin-pulpa kompleksinin yeniden oluşturulmasıdır. Mineral trioksit agregat (MTA) gibi başarı gösteren materyallerin ve doku mühendisliği konseptlerinin kullanılması ile kök gelişimini tamamlamamış nekroze dişlerin kök-çevre doku gelişimlerinin devam etmesi mümkün olmuştur. Kök hücreler ile yapılan çalışmalarda umut vaat eden sonuçlar elde edilmiş olup halen diş-çevre dokularının rejenerasyonunda olumlu gelişmeler kaydedilmektedir. Kök hücrelerin kullanımı etik olarak sorgulandığından, bu materyallerin klinik olarak etkisi henüz bilinmemektedir. Bu derleme çalışmasında, rejeneratif endodontik tedavi yöntemi, kullanılan materyaller ve bu alandaki güncel gelişmeler detaylı olarak ele alınmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Rejeneratif Endodonti, Dental Pulpa Çocuk Diş Hekimliği

GİRİŞ

Kök hücre biyolojisi ve doku mühendisliği son yıllarda önemli gelişmeler kaydeden bilimsel disiplinlerdendir.¹ Bu gelişmeler rejeneratif tıbbın ilerlemesini sağlamıştır. Rejeneratif tıp; yaş, hastalık, hasar veya konjenital defektler yüzünden fonksiyonunu kaybetmiş doku veya organların rejenerasyonu, tamiri veya yerine canlı fonksiyonel dokuların konulmasını amaçlayan karşıt disiplinlerin kombine edilmesidir.

1952 yılında Hermann'ın, kalsiyum hidroksit (Ca(OH)₂) uygulayarak yaptığı vital amputasyon tedavisi, diş hekimliğinde uygulanan rejeneratif işlemlerin başlangıcı olarak kabul edilmektedir.² Sonrasında geliştirilen rejeneratif dental işlemler ise; yönlendirilmiş doku ve kemik rejenerasyonları, distraksiyon osteogenezi, kemik ogmentasyonu için Platelet Rich Plasma (PRP) ve rekombinant insan kemik morfojenik proteini (rhBMP) uygulamalarının yanı sıra periodontal doku rejenerasyonu için Emdogain ve fibroblast büyüme faktörü (FGF2) uygulamalarıdır.³

Rejeneratif pulpa tedavileri

Rejeneratif endodonti; dentin, pulpa, sement ve periodontal dokuyu içine alan zarar görmüş dental dokuların yenisi ile yer değiştirmesini sağlayan biyolojik temelli işlemler olarak tanımlanmaktadır. Rejeneratif endodontik tedavilerde amaç; kanal içinde pulpa benzeri yeni bir doku yaratmak, uzun süren Ca(OH)₂ apeksifikasyonu ve kök kanal dolgusu yerine daha kısa süreli bir tedavi uygulamak⁴, uzun süreli Ca(OH)₂ uygulamasının yol açtığı kök dentinindeki kırılganlığı azaltmaktır.⁵

Rejeneratif pulpa tedavilerinde değerlendirilmesi gereken kriterler

Rejenerasyon prosedürünün avulse süt dişlerinde ve kök oluşumu tamamlanmış dişlerde uygulanması önerilmemektedir.⁶

A. Apeks genişliği ve kök gelişim aşaması

Olgunlaşmamış sürekli dişlerde rejeneratif endodontik tedavi uygulanmadan önce apikal foramenin genişliği değerlendirilmelidir. Rejeneratif endodontik tedaviler için apeksi 1,1 mm veya daha geniş olan dişlerin en iyi aday olduğu belirtilmektedir.⁷

Ayrıca, travma sonucu kök gelişimini tamamlayamayan dişlerde, kök ucu açıklığı ne kadar fazla ise uygulanan revaskülarizasyon tedavisinin o kadar başarılı olduğu bildirilmiştir.⁸

B. Hastanın yaşı

Rejenerasyon prosedürlerinin uygulandığı olgu raporları genellikle 8-16 yaşındaki hastalarla sınırlandırılırken, bu konudaki kısıtlı verilerden yola çıkılarak rejeneratif endodontik tedavilerin 8 yaşından küçük ve 16 yaşından büyük hastalara uygulanması tavsiye edilmemektedir.⁹

Fakat yakın zamanda yapılan bir çalışma bu görüşün sorgulanmasına yol açmıştır. Jadhav ve ark.¹⁰ yaptıkları çalışmada 40 yaşındaki bir hastaya rejeneratif endodonti protokolünü PRP ile beraber uygulamışlardır ve çalışmanın 6 aylık ve 1 senelik radyografik takibi sonucunda başarı elde ettikleri görülmüştür.

C. Hastanın sistemik durumu

Genetik hastalığı, ağır sistemik hastalığı bulunan veya immün sistemi zayıf olan kişilerde bu konuda çalışma yapılmamıştır. Garcia-Godoy ve ark.⁶, bu tip hastalıkları

olan çocukların iyileşme yanıtının zayıf olacağını, bu nedenle rejeneratif endodontik tedavilerin başarılı olamayacağını ileri sürmüşlerdir. Rejeneratif prosedürler sağlıklı insanlarla sınırlı tutulmalıdır.

D. Alerji

Rejeneratif pulpa tedavilerinde dezenfeksiyonda başarı sağlanabilmesi için genellikle antibiyotik kombinasyonları kullanılmaktadır. Özellikle siprofloksasin, metronidazol ve minosiklin karışımı en sık kullanılan üçlü antibiyotik patı karışımıdır. Kanal içinde kullanılan üçlü antibiyotik patları birçok kişinin alerjik olduğu beta laktam içermemekte, bu sayede uzun süre antibiyotiğe maruz kalmadan kaynaklanabilecek alerjik reaksiyon riski minimuma indirilebilmektedir.¹¹

E. Renkleşme

Bir tetrasiklin türevi olan minosiklin, ağız içinde uzun dönem kullanıldığında renkleşmeye neden olabilmektedir. Üçlü antibiyotik patındaki antibiyotiklerin içinde sadece minosiklinin renkleşmeye sebep olduğu gösterilmiştir. Kim ve ark.¹² yaptıkları çalışmada üçlü antibiyotik patının uygulanmasından 6 hafta sonra dişte renkleşme meydana geldiğini bildirmişlerdir. Renkleşmeyi önlemek amacıyla kuronal pulpa odası kısmında kullanılan dentin bonding ajanlarının renkleşmeyi azalttığı, ancak tamamen önleyemediği de belirtilmiştir. Son yıllarda daha az renkleşmeye sebep olduğu için sefaklor kullanılmaya başlanmıştır.

F. Vitalite

Günümüze dek olgunlaşmamış genç sürekli dişlerin tedavi şeklinin saptanmasında dişin canlı olup olmaması belirleyici ölçüt olmuştur. Vital dişlerde apeksogenezis yapılırken, devital dişlerde apeksifikasyon tedavisi uygulanmaktadır. Ancak son zamanlarda araştırmacılar

rejeneratif tedavi uygulamaları ile açık apeksli dişlerde enfeksiyon nedeniyle oluşan periapikal apse ve periradiküler kemik rezorpsiyonuna karşın kök oluşumu sağlanabildiğini, pulpa nekrozu sonunda periradiküler lezyon ve fistül yolu olan dişlerde bile apeks oluşumu gözlendiğini bildirmişlerdir.¹³

Pulpa rejenerasyonunda kullanılan yöntemler

1. Pıhtılaşma yolu ile kök kanal revaskülarizasyonunun sağlanması

Bu yöntemde, kök gelişimi tamamlanmamış sürekli dişlerde, kanal sistemindeki enfeksiyonun kontrol altına alınmasını takiben, kök kanalında pıhtı (fibrin matriks) oluşturulması ve oluşan pıhtı içinde revaskülarizasyon ile tamir dokusu oluşması amaçlanmaktadır.¹⁴

Genellikle sodyum hipoklorit ve klorheksidin ile irrigasyon sonrası, kanal içerisine özel antibiyotik kombinasyonu konularak etkili bir dezenfeksiyon sağlanmakta ve nekrotik dişlerde bu şekilde revaskülarizasyon şansı artırılmaktadır.⁷

Bu teknik sonucunda oluşan rejener dokunun yapısal olarak pulpa ile benzerliği tam olarak ispatlanamamıştır. Ancak bu teknikle ilgili yayınlanmış olgu raporları, devam eden kök formasyonu ve vitalite testlerine pozitif cevap veren bir iyileşmeyi göstermiştir. Rejenere olan dokuların apikal foramenden gelen periodontal ligament dokusu, sağ kalan pulpa kök hücrelerinden gelen pulpa dokusu veya apikal papilla kökenli kök hücrelerden (SCAP) kaynaklı olup olmadığı bilinmemektedir. Yeni oluşan sert doku; sement, kemik, dentin veya osteodentin yapısında olabilmektedir.¹⁵

2. Erişkin kök hücre tedavisi

Kök kanalı açıldıktan ve dezenfekte edildikten sonra, kök hücrelerin kanal içine enjekte edilmesidir.¹⁶ Hastanın doğumdan sonra kriyojenik olarak saklanan göbek kordonu kanı, patojenite içermeyen allojenik saflaştırılmış pulpa hücreleri ve ksenojenik (hayvan kaynaklı) pulpa kök hücreleri bu yöntemde hücre kaynağı olarak kullanılabilir.³

Erişkin kök hücreleri kullanılarak gerçekleştirilen bu yöntemin avantajı; otojen kök hücrelerin elde edilmesi, enjeksiyon yöntemiyle uygulanmasının kolay olması ve bu hücrelerin pulpa rejenerasyonunu sağlayabilmesidir. Dezavantajı ise; hücrelerin düşük sağ kalım değerlerine sahip olması ve vücudun farklı bölgelerine göç ederek anormal mineralizasyonlara yol açabilmesidir. Hücrelerin bir fibrin pıhtı veya doku iskelesi ile beraber uygulaması durumunda bu durumun değişebileceği düşünülmektedir.³

3. Pulpa implantasyonu

Pulpa implantasyonu, laboratuvar şartlarında hazırlanmış pulpa dokusunun temizlenmiş ve şekillendirilmiş kök kanal sistemine transplante edilmesi işlemidir.¹⁷ Bu yöntemde pulpa hücreleri, membran filtrelerinin üzerinde geliştirilmektedir. Laboratuvar şartlarında filtreler üzerinde hücre gelişimi nispeten kolaydır. Ayrıca boş kök kanallarının içine enjeksiyon yapılırken bir araya toplanmış hücre tabakalarının, birbirinden ayrılmış hücrelerden daha fazla stabilite gösterdiği bildirilmiştir.¹

Bu yöntemde karşılaşılabilecek problemlerden biri, hücrelerin kök kanal duvarlarına bağlandığından emin olmak için gereken özel prosedürlerdir. Filtrelerin çok ince tabakalı olması nedeniyle kök kanal

sistemine kırılmadan yerleştirilebilmesi de zorluk yaratmaktadır.¹

4. İskele implantasyonu

Doku mühendisliği tedavilerinin daha pratik olması için pulpa kök hücreleri, hücre organizasyonu ve vaskülarizasyonunu destekleyen üç boyutlu yapı halinde elde edilmelidir. Bu sistem, pulpa kök hücreleri ile birlikte ekilmiş poröz polimer iskeleler kullanılarak başarılmıştır.¹⁶

Doku iskeleleri döküm ve enjekte edilebilir olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.¹⁸ Bu 2 tip iskele morfojenik sinyaller ile fonksiyon görmektedirler. Bu sinyaller genellikle kısa bir yarılanma ömrüne sahip proteinlerdir. Bu proteinlerin zamanla kontrollü bir şekilde salınmaları için bir yöntemin geliştirilmesine yönelik çalışmalar günümüzde devam etmektedir. Morfogenetik proteinler hem döküm hem de enjekte edilebilir doku iskelelerinin yapısına katılabilmektedir. Döküm doku iskelelerinin yapısına polilaktikglikolik asit gibi kopolimerler eklenerek ve gaz-köpürtücü yöntemler kullanılarak bu mümkün olmaktadır. Morfogenetik proteinler, kollajen ile veya bir hidrojel olan Puramatrix (BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ) ile karıştırılarak enjekte edilebilir doku iskelelerinin yapısına eklenebilmektedir. Fakat enjekte edilebilir doku iskelelerine morfogenetik proteinlerin eklenmesi durumunda proteinlerin degradasyon süresini yavaşlatmak oldukça güçtür.¹⁹ Bu sorunu çözebilmek adına, biyoyumlu ve düşük immün cevaplara sebep olan kahverengi deniz yosunlarından elde edilen doğal polimerlerin enjekte edilebilir doku iskelelerinde kullanılması önerilmiştir ve günümüzde çalışmalar devam etmektedir.²⁰

Son yıllarda, Platelet-Rich Plasma (PRP) ve Platelet-Rich Fibrin (PRF) doku iskelesi olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Bu iki üstün materyal büyüme faktörleri içermektedir. Doku mühendisliğinde, hücre büyümesi ve diferensiyasyonu doku iskelesine bağlıdır.²¹ Kök hücrelerinin diferensiyasyonu ekstraselüler matriks molekülleri tarafından kontrol edilmektedir. Büyüme faktörleri içeren bir doku iskelesinin doku diferensiyasyonu hızını arttıracığı ve zamanla degradasyonu olacağından idealdir. Bütün bu özellikleri barındıran PRF, rejeneratif endodonti için uygun bir doku iskelesi olarak düşünülebilir.²² PRF'in tek dezavantajı manüplasyonunun zor olmasıdır. Nekrotik pulpası ve açık apeksi bulunan dişlerde PRF uygulaması ile ilgili çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.²³

5. Üç boyutlu hücre yazılımı

Bu teknikte sprey boya cihazlarına benzer bir cihaz kullanılarak ve hücre tabakaları hidrojel içine dağıtılarak, pulpa dokusu yeniden oluşturulabilmektedir.²⁴ Üç boyutlu hücre yayma tekniği doğal pulpa dokusunun tam olarak taklidini oluşturabilmektedir.³

Bu yöntemin dezavantajı (pulpa dokusunun oryantasyonu açısından); temizlenmiş ve şekillendirilmiş kök kanal sistemi içerisine yerleştirilen pulpa dokusunun apikali ve krunali arasında asimetri oluşmasıdır. Ayrıca, bu yöntemde her bireyin pulpa kavitesi için ayrı bir üç boyutlu modelin yapılması gerekmektedir. insanların oldukça kompleks ve değişken bir anatomiye sahip 32 dişinin, dişten diş ve bireyden bireye değişkenliği göz önüne alındığında bu işlem oldukça zordur. Üretilen dokuların dar kanallara yerleştirilebilmesi için de çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.²⁵

6. Gen tedavisi ve biyoaktif materyaller

Gen tedavisi; rejenerasyon sırasında dokunun gereksinimi olan büyüme

faktörlerinin, transkripsiyon faktörlerinin, morfojenlerin ve ekstraselüler moleküllerin üretilip salgılanması için doğal biyolojik işlemleri stimüle etmek amacıyla hücrelere ya da dokulara gen nakledilmesidir. Bu tedavi, özellikle büyüme faktörlerinin yaşam sürelerinin kısa olması nedeniyle, fizyolojik seviyelerde büyüme faktörü üretimi için faydalı olmaktadır. Diğer bir yaklaşım da kalsifik doku oluşturmak amacıyla pulpa dokusuna mineralize edici genlerin yerleştirilmesidir.³

Sağlık açısından yüksek riskli olması nedeniyle gen tedavilerinin rejeneratif pulpa tedavilerinde kullanımı yakın gelecekte mümkün görülmemektedir. Gen tedavisi yeni bir alandır ve nekrotik pulpa dokusunun kurtarılma potansiyeline dair yeterli kanıt bulunamamıştır. Bu nedenle potansiyel yarar ve zararları daha çok teorik düzeyde kalmaktadır.¹

Rejeneratif pulpa tedavilerinden sonra iyileşme şekilleri

Oluşan dokunun yapısı henüz belli değildir. Oluşan bu yeni dokunun yapısı ve kaynağı ile ilgili olası mekanizmalar bildirilmiştir.²⁶ Kök kanalının apikal kısmında birkaç canlı pulpa hücresi kalmış olabilir ve bu hücreler yeni oluşmuş olan matrikse proliferasyon yapabilirler. Bu matriks içerisinde farklılaşarak odontoblastlara dönüşebilirler. Böylece yeni dentin salgılanır ve kök uzunluğu ve dayanıklılığı artar.¹⁴ Kök gelişiminin bir mekanizması da apikal papilla kökenli kök hücreleri (SCAP) veya kemik iliğinden gelen kök hücreleri olabilir. Pulpa rejenerasyonunun sağlanması ve kök gelişiminin devam etmesi için en önemli doku apikal papilladır.²⁷ Üçüncü olası mekanizma ise periodontal ligamentte bulunan kök hücreleri olabilir. Bir diğer olası mekanizmanın olgunlaşmamış dişlerde bol bulunan dental pulpanın kök hücreleri

olabileceği düşünülmektedir. Büyüme faktörlerinden zengin olan kann pıhtısının farklılaşmayı, büyüme, fibroblastların matürasyonu, odontoblastları, sementoblastları vs. stimüle ettiği ve rejenerasyonda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.²⁸

SONUÇ

Açık apeksli dişler, başarılı bir kök kanal tedavisini sıklıkla güçleştirmektedir. Apikal bölgede sert doku bariyerinin bulunmaması, kök kanalının taşkın doldurulmasına neden olarak hassasiyet, ağrı ve enfeksiyon gibi bulguların görülmesine yol açmaktadır. Diğer taraftan, Ca(OH)₂ ile gerçekleştirilen uzun apeksifikasyon tedavisi sırasında geçici restorasyonlar düşebilmekte ve bunun yanı sıra sızıntı ve re-enfeksiyon oluşabilmektedir. Ayrıca, Andreasen ve ark.²⁹ uzun süreli Ca(OH)₂ tedavisinin ardından olgunlaşmamış dişlerin kırılma direncinde anlamlı bir düşüş olduğunu göstermişlerdir. MTA biyo-uyumluluk, bakteriyostatik etki ve güçlü fiziksel özelliklerin örtücülük kabiliyeti ile kombine olduğu bir materyal olması nedeniyle tek seanslı apeksifikasyonda tercih edilen materyal halini almıştır.

Rejeneratif tekniklerin her birinin avantajları ve dezavantajları bulunmakta, bazı teknikler ise etik olarak uygun görünmemektedir. Unutulmaması gereken en önemli nokta, rejeneratif endodontik tekniklerle ilgili tüm araştırmaların henüz başlangıç safhasında olduğudur.³

Rejeneratif endodontik tedavilerin uygulanmasını takiben kök dentin duvarlarında radyografik olarak kalınlaşma ve boyca uzama görülmektedir. Ancak, bu kalsifiye yapının hücresel dokusunun ne olduğu hakkında henüz net bir bilgi mevcut değildir. Pulpa boşluğunu dolduran

yeni doku da doğal pulpa dokusundan çok periodontal ligamente benzerlik göstermektedir.

Çalışmalara göre kalan pulpa dokusunun dişi revitalize etme potansiyeline sahip olduğu saptansa bile, ileri pulpa hastalıklarının gelişmesine de neden olabileceği ve tekrar tedavi ihtiyacı doğabileceği unutulmamalıdır. Yeni dokunun oluşması için yeterli doku rejenerasyonunun yanında mikrobiyolojik kontrolün de artırıldığı daha ileri metodlara ihtiyaç duyulmaktadır.³ Revaskülarize dişlerde yeni çürük gelişimi söz konusu olursa, bu dişlerin tedaviye normal dişler gibi yanıt verip veremeyecekleri de merak edilen bir nokta olarak araştırılmaya devam edilmektedir.³⁰

Günümüzde kullanılan diş tedavilerine alternatif olarak geliştirilen rejeneratif pulpa tedavilerinin yaygın olarak kullanılabilmesi için daha fazla ve daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Yakın gelecekteki araştırmalar, temel olarak diş dokusunun gelişiminde kök hücrelerin tanımlanması, bu hücrelerin farklılaşma yolunun haritasının çıkartılması ve ayrıca lokal faktörlerin gelişimsel sonucu nasıl etkilediği gibi problemlere çözüm arayacaktır.^{31,32}

REFERANSLAR

1. Akgün ÖZ, Polat GG, Altın CA. Rejeneratif pulpa tedavilerinde doku mühendisliği uygulamaları. Klinik bilimler dergisi 2008;2(4):238-244.
2. Lesot H, Smith AJ, Tziafas D, Begue-Kirn C, Cassidy N, Ruch JV. Biologically active molecules and dental tissue repair: A comparative review of reactionary and reparative dentinogenesis with the induction of

- odontoblast differentiation in vitro. *Cells Mater* 1994; 4: 199-218.
3. Murray PE, Windsor U, Smyth TW, Hafez AA, Cox CF. Analysis of pulpal reactions to restorative procedures, materials, pulp capping and future therapies. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;33(4):377-390.
 4. Sharma S, Sikri V, Sharma NK, Sharma VM. Regeneration of tooth pulp and dentin: trends and advances. *Annals of neurosciences* 2010;17(1):31-43.
 5. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dent Traumatol* 2002;18:134-137.
 6. Garcia-Godoy F, Murray PE. Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. *Dent Traumatol* 2012;28:33-41.
 7. Kumar ARP, Subbiya A. Regenerative endodontic therapy on non-vital immature maxillary incisors: Working protocol and a case report. *Journal of Interdisciplinary Dentistry* 2011;1(1):55-57.
 8. Kling M, Cvek M, Mejare I. Rate and predictability of pulp revascularization in therapeutically reimplanted permanent incisors. *Endod Dent Traumatol* 1986; 2: 83-9.
 9. Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N. Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspids using a modified novel technique to eliminate potential coronal discoloration: a case report. *Int Endod J* 2009;42:84-92.
 10. Jadhav GR, Shah N, Logani A. Platelet-rich plasma supplemented revascularization of an immature tooth associated with a periapical lesion in a 40-year-old man. *Case reports in Dentistry* 2014; 2014: 479584.
 11. Hoshino E, Ando-Kurihara N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, Iwaku M. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J* 1996;29:125-130.
 12. Kim JH, Kim Y, Shin SJ, Park JW, Jung IY. Tooth discoloration of immature permanent incisor associated with triple antibiotic therapy: a case report. *J Endod* 2010;36:1086-1091.
 13. Wang X, Thibodeau B, Trope M, Lin LM, Huang GT. Histologic characterization of regenerated tissues in canal space after the revitalization/revascularization procedure of immature dog teeth with apical periodontitis. *J Endod* 2010;36(1):56-63.
 14. Banchs F, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod.* 2004;30:196-200.
 15. Aydın AK, Berbercan P. Biyomühendislik esasları ile diş oluşturulmasına yönelik yaklaşımlar. *SÜ Dişhek Fak Derg* 2012;19:99-114.
 16. Hargreaves KM, Geisler T, Henry M, Wang Y. Regeneration potential of the young permanent tooth: What does the future hold? *J Endod* 2008;34:51-56.
 17. Huang GTJ, Sonoyama W, Chen J, Park SH. In vitro characterization of human dental pulp cells: various isolation methods and culturing environments. *Cell Tissue Res* 2006;324:225-236.
 18. Yang S, Leong KF, Du Z. The design of scaffolds for use in tissue

- engineering part I. Traditional factors. *Tissue Eng* 2001; 7: 679-89.
19. Golub JS, Kim YT, Duvall CL. Sustained VEGF delivery via PLGA nanoparticles promotes vascular growth. *Am J Physiol* 2010; 298:H1959-65.
 20. Fujiwara S, Kumabe S, Iwai Y. Isolated rat dental pulp cell culture and transplantation with an alginate scaffold. *Okjimas Folia Anat Jpn* 2006; 83:15-24.
 21. Forghani M, Parisay I, Maghsoudlou A. Apexogenesis and revascularization treatment procedures for two traumatized immature permanent maxillary incisors: A case report. *Restor Dent Endod* 2013; 38: 178-181.
 22. Chan BP, Leong KW. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *Eur Spine J* 2008; 17: 467-479.
 23. Hotwani K, Sharma K. Platelet rich fibrin- a novel acumen into regenerative endodontic therapy. *Restor Dent Endod* 2014; 39: 1-6.
 24. Sanjana NE, Fuller SB. A fast flexible ink-jet printing method for patterning dissociated neurons in culture. *J Neurosci Methods* 2004;136:151-163.
 25. Barron JA, Krizman DB, Ringeisen BR. Laser printing of single cells: statistical analysis, cell viability and stress. *Ann Biomed Eng* 2005;33(2):121-130.
 26. 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;34:919-25.
 27. Cotti E, Mereu M, Lusso D. Regenerative treatment of an immature, traumatized tooth with apical periodontitis: report of a case. *J Endod.* 2008;34:611-6.
 28. Gronthos S, Brahim J, Li W, Fisher LW, Cherman N, Boyde A, et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res.* 2002;81:531-5.
 29. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dent Traumatol* 2002;18:134-137.
 30. Thibodeau B, Teixeira F, Yamauchi M, Caplan DJ, Trope M. Pulp revascularization of immature dog teeth with apical periodontitis. *J Endod* 2007;25:197.
 31. Windley W, Teixeira F, Levin L, Sigurdsson A, Trope M. Disinfection of Immature Teeth With a Triple Antibiotic Paste. *J Endod* 2005;31:439.
 32. Pramila R, Muthu MS. Regeneration potential of pulp-dentin complex: Systematic review. *J Conserv Dent* 2012;15(2):97-103.