

DIŞ HEKİMLİĞİNDE DOKU MÜHENDİSLİĞİNİN YERİ

Tissue Engineering in Dentistry

Z. Selin SIRIK¹, Selen ERGİN¹, Gülbahar IŞIK¹

Makale Gönderilme Tarihi: 15/09/2011

Makale Kabul Tarihi: 15/03/2012

ÖZ

Doku mühendisliği hasarlı doku ve organların yeniden restore edilmesini amaçlayan bir mühendislik dalıdır. Bu mühendislik dalı, hücrelerin doğal veya sentetik yapı iskelelerine spesifik sinyallerle entegre edilmesi üzerine kurulmuştur. Bu kısa derlemede diş hekimliğinde doku mühendisliği stratejiler ve uygulama alanları olarak iki başlık altında incelenmiştir. Doku mühendisliği stratejilerinde doku kondüksiyonu, doku indüksiyonu, kök hücre nakli ve gen terapisi tanımlanmış, doku mühendisliği uygulama alanlarında da oral kavitenin kemik, kırık, dentin, dental pulpa ve tükürük bezi gibi çeşitli dokularında yapılan rejeneratif çalışmalar incelenmiştir. Doku mühendisliği stratejileri ile bugün, deri, kırık gibi dokular laboratuvarında işlendikten sonra bazı medikal uygulamalarda kullanılabilir. Oral kavitenin çeşitli dokularında çok geniş uygulama alanları bulunan doku mühendisliği, diş hekimliğinde devrim niteliğinde olsa da kompleks doku defektlerinin tedavisi üzerine daha çok araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: *Doku mühendisliği, protodonti, diş hekimliği, kök hücre, rejenerasyon*

ABSTRACT

Tissue engineering is a field of an engineering that aims to restore damaged tissues and organs. It is based on to integrate cells on a specific natural or synthetic scaffolds with the specific signals. In this brief review dental tissue engineering has been examined under two headings; (i) strategies and (ii) applications. In the strategies tissue conduction, tissue induction, stem cell transplantation and gene therapy have been described. The various tissues of the oral cavity such as bone, cartilage, dentin, dental pulp, and salivary gland engineering have been reviewed as applications. Skin and cartilage tissues after processing in the laboratory with tissue engineering strategies, have been used in some medical applications. Although the wide variety of tissue engineering applications in various tissues of the oral cavity made revolution in dentistry, more research on the treatment of complex tissue defects are needed

Keywords: *Tissue engineering, prosthodontics, dentistry, stem cells, regeneration*

¹İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi A.D.

Giriş

Doku mühendisliği, hücrelerin entegre edildiği doğal veya sentetik yapı iskeleleri ve spesifik sinyaller üzerine inşa edilmiş bir bilim dalıdır ve son yıllarda önemli gelişmeler göstermiştir (1,2,3). Bu mühendislik alanı, fonksiyonunu kaybetmiş doku ya da organların yeniden restore edilmesini amaçlar (4,5,6). Bu gün kaybedilmiş ya da hasarlı dokuların tedavisinin temelinde otojen greftlerin, allogreftlerin, alloplastların uygulanması yer almaktadır. Tüm bu tedavi yaklaşımları başarılı olmasına rağmen her birinin uygulamada sınırlamaları bulunmaktadır (7,8,9). Bu sınırlamalar; doku nakli için insan vücudunda yeterli miktarda otoplast stoklarının bulunmaması, allogreftlerin genetik farklılıklarından dolayı immüno- lojik reaksiyonlara yol açması, alloplastların yabancı cisim reaksiyonu oluşturması olarak sayılmaktadır. Bütün bu sınırlamalar kaybedilen dokunun ideal olarak nasıl yerine konulacağı sorusunu gündeme getirmiştir.

Bu kısa derlemede, diş hekimliğinde doku mühendisliğinin yeri, stratejiler ve uygulama alanları olarak iki başlıkta incelenmiştir.

Diş Hekimliğinde Doku Mühendisliği Stratejileri

Kaybedilen ya da hasarlı dokuların tedavisinde altın standart; dokunun aynı yapıya sahip sağlıklı dokularla yer değiştirmesidir (3). Bu standarda ulaşmak için benimlenen stratejiler, doku kondüksiyonu, doku indüksiyonu ve hücre nakli olmak üzere 3 ana grup altında sınıflandırılır. Gen terapisi genellikle doku mühendisliği yaklaşımlarına örnek olarak kabul edilmese de farklılaşabilen hücrelerle yapılan gen transferi doku mühendisliğinde dördüncü bir strateji olarak sayılabilir.

Gen terapisi

Bu yöntem ilk defa kalıtsal adenoazin deaminaz (ADA) enziminin azalması ile seyreden şiddetli immün yetmezliğe sahip iki hastanın tedavisinde kullanılmıştır. Bu hastalarda kullanılan yöntem ex vivo gen terapisi olarak isimlendirilmektedir. ADA genleri laboratuvar ortamında lenfositlere aktarılmış ve modifiye edilen bu hücreler yeniden hastalara nakledilmiştir (1,10).

Gen transferi yöntemindeki başlıca sorun, taşıyıcı hücrelere gerekli genleri sağlamak için ihtiyaç duyulan, gen aktarma vektörlerinin yeterli olmamasıdır. Bu yöntem için sıklıkla modifiye edilmiş virüsler kullanılmaktadır ancak her virüsün kendine has yan etkisi bulunmaktadır (1,11,12).

Gen terapisi, kraniyofasiyal bölgede baş boyun kanserlerinin tedavisinde de kullanılmaktadır. Büyük olasılıkla önümüzdeki on yıl içinde klinisyenlerin gen terapisini kanser tedavilerinin standart bir parçası olarak kullanacakları düşünülmektedir (7,13,14,15)

Doku kondüksiyonu

Doku kondüksiyonu, doku mühendisliği içinde pasif bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir. Bu teknik, yaşayan hücreleri ya da biyolojik sinyalleri içermez, en güzel örneklerden biri dental implant uygulamalarıdır. Doku kondüksiyonuna başka bir örnek yönlendirilmiş doku rejenerasyonudur. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu daha çok periodontal destek yapılarının yeniden elde edilmesinde kullanılmaktadır. Epitel dokunun bağ dokuya göçünü engellemek, koruyucu bir bölme oluşturmak için bariyer membrandan yararlanılır (1,3,4,5).

Doku indüksiyonu

Yeni kemik oluşumunu (osteogenezis) ve kan damarı oluşumunu (anjiogenezis) (16), sağlayan büyüme faktörlerinin keşfi doku indüksiyonunun temelini oluşturmaktadır. Toz haline getirilen kemiğin aşılınmasıyla yeni kemik oluşturulabildiği keşfedildikten sonra (17), kemik tozundaki aktif maddeler ayrıştırılmış ve bu maddeleri kodlayan genlerin kopyalanması ile birlikte Bone Morfojenik Proteinlerin (BMPs) üretilmesi sağlanmıştır (18). Bone morfojenik proteinlerin kullanılmasıyla, iyileşmeyen kemik kırıklarının ve periodontal dokunun rejenerasyonu sağlanabilmektedir (19). Kan damarı formasyonunu sağlayan spesifik moleküllerin keşfinin ardından Judah Folkman ilk kez tıkalı arterlere alternatif yeni damar indüksiyonunu sağlanmıştır (1,4,20).

Doku indüksiyonu yaklaşımının uygulaması, hasarlı doku alanında, yapı iskelesi üzerine spesifik ekstraselüler matriks moleküllerinin yerleştirilmesi ile olmaktadır. Bu moleküller dokuda bulunan hücrelerin fonksiyonunu yöneterek istenen yapının oluşmasını sağlarlar. Domuzdan alınan diş minesini proteinlerinin, periodontal hasarlı bölgelerde yeni kemik oluşumu için kullanılması bu yaklaşıma örnektir (1,21). Diğer bir örnek ise; laminin proteininin dental implantlarla diş eti birleşimini geliştirmek üzere test edilmesidir (4,16,17,18,19,21,22). Doku indüksiyonunda alternatif bir uygulama ise hasarlı doku alanına spesifik moleküller yerine, molekülleri kodlayan genlerin yerleştirilmesidir (1).

Doku indüksiyonunun başarılı olması hasarlı dokuya yerleştirilen uygun faktörün, uygun dozda ve yeterli süre kalabilmesi ile mümkündür. Ancak bu proteinlerin uzun süre etkili kalması gerektiği halde vücuttaki yarılanma süresi çok kısadır. Bu nedenle bu

proteinlerin kontrollü salınımları sağlanmaya çalışılmıştır (1,23)

Doku mühendisliğinde çözülemeyen problemlerden biri de tamamen fonksiyonel bir dokunun geliştirilebilmesi için gerekli protein sinyallerinin belirlenememesidir (1,3). Böbrek, tükürük bezi gibi birçok doku için gerekli indüktif faktörler belirlenememiştir (4).

Hücre nakli

Hücre naklinde, laboratuvarda üretilen hücreler ve rezorbe olabilen doku iskelesi kullanılmaktadır. Spesifik doku hücreleri biyopsi örneklerinden izole edilir ve rezorbe olabilen porlu polimer yapı iskelesiyle kombine edilirler. Hücreler yapı iskelesine yapışır, prolifer olurlar ve zamanla başka bir hastaya veya vericiye nakledilmeye hazır bir dokuya dönüşürler. Bu dokular gelecekte kullanılmak üzere stoklanabilir. Hücre nakli spesifik bir doku için gerekli olan biyoaktif moleküller bilinmediğinde, organ oluşumu gerektiğinde veya dokunun yenisiyle değiştirilmesinin acil olduğu durumlarda tercih edilmektedir. Bu yöntem hücrelerin laboratuvarda çoğaltılmasını gerektirmektedir, fakat bazı dokulardaki hücrelerin çoğaltılması henüz mümkün değildir (örneğin; tükürük bezindeki asiner hücreler, pankreastaki adacık hücreleri) (1,4).

En başarılı hücre nakli uygulaması deri nakli olarak gösterilebilir. Örneğin 6.5 cm² örnek dokudan 23.225 m² deri dokusu elde edilebilmektedir. Deri dokusuna, yanıkta ve diyabetik ülser hastalarının tedavisinde ihtiyaç duyulmaktadır (4,24). Oral mukozanın yenilenmesi için de benzer yaklaşımlar geliştirilmiştir (25,26).

Kıkırdak hücreleri eklem kıkırdağı bozukluklarının onarımında kullanılmaktadır (27). Uygun mekanik özelliklere sahip yapı

iskelesinin tasarımı, araştırmacıların hayvan modellerinde, istenen şekil ve büyüklükte kıkırdak doku inşa etmesine izin vermektedir; bu yöntemin kulak (28), nasal septum (29) ve kraniofasiyal rekonstrüksiyonda kullanılabileceği bildirilmiştir (1,4).

Bu gün hücre naklinde doku iskelesi, biyosinyal moleküller ve kök hücrelerden oluşan 3 temel faktör vardır (7). Doku iskelesi, hücre üremesini yeni doku ve organları oluşturacak şekilde yönlendirmek ve gerekli mekanik desteği sağlamak için 3 boyutlu olarak üretilir. Doku etrafındaki ortama benzer etkiler sağlamak için ise biyosinyaller kullanılır (4). Bu gün birçok doku mühendisliği çalışmasında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA: U.S. Food and Drug Administration) tarafından kabul edilen biyomateryaller kullanılmaktadır. En sık kullanılan biyomateryaller; polilaktik-glikolik asit kopolimerleri (30,31,32,33), kollajen (31,34), poli-fosfazenler (35), poli-üretanlar (36), polikaprolakton (37), polietilenglikol (PEG) (38), poli(propilen fumarat) (39), nişasta bazlı materyaller (40), aljinat (41), ipek (42), biyoaktif cam ve cam seramikler (43,44), kalsiyum fosfat seramikler (45,46), kalsiyum fosfat-kollajen karışımları (34) ve sentetik polimer / apatit kompozitler (47,48,49) olarak sayılabilir. Ciocca ve arkadaşları bilgisayarlı tomografi, bilgisayar destekli dizayn ve bilgisayar destekli üretim (CAD/CAM) teknolojilerini kullanarak üç boyutlu yapı iskelesi üretmeyi başarmışlardır (50).

Kök hücreler ise embriyonik ve erişkin kök hücreler olmak üzere iki tiptir (51,52). Embriyonik kök hücreler insan vücudundaki tüm hücrelere dönüşme potansiyeline sahip iken erişkin kök hücreler sadece belirli dokuda bulunur ve sınırlı sayıda hücre tipine dönüşme potansiyeline sahiptir (53,54). Günümüzde embriyonik kök hücrelerin de-

neysel ve klinik amaçlarla kullanımı etik kurullarca durdurulmuştur. Kök hücre kullanılarak kemik iliği, mezenkim, diş ve ağız dokuları elde etme çalışmaları devam etmektedir (55).

Diş hekimliğinde kök hücreler dental pulpa kök hücresi (DPSCs) (56), periodontal ligament kök hücresi (PDLSCs) (57), dental follikül prekürsor hücre (DFPCs), apikal papilla kök hücresi, epitelyal kök hücre olarak sınıflandırılmıştır (52,58). Dental pulpa kök hücresinin (DPSCs), odontoblast, osteoblast hücrelerinin yanı sıra yağ ve nöron hücresine dönüşebildiği bildirilmiştir (52,56,59,60). Çekilen dişlerin kök yüzeyinden periodontal ligament kök hücreleri (PDLSCs) elde edilmektedir (57). Bu kök hücreler, periodonsiyum dokularına veya hücrelerine farklılaşabilmektedirler (52,59,61). Dental follikül, diş tomurcuğundaki dokulardan biridir. Dental follikül kök hücresi, çekilen yirmi yaş dişlerinden elde edilebilir, periodonsiyumu oluşturan öncü hücrelere sahiptir, periodontal ligament, sement ve alveol kemiği oluşturabilir. İn vitro koşullarda kolonileşerek osteoblasta dönüşebilmektedir (52,59,61,62). Apikal papilla kök hücreleri dental kök hücrelerinde yeni bir sınıflamadır. Bu doku, dişin olgunlaşması ve kurununun oluşması döneminde pulpayı oluşturur. Yirmi yaş dişlerinin dental papillasından veya 4 aylık domuzların kesici dişlerinden izole edilebilmektedir. Diş gelişiminin sadece belirli bir döneminde izole edilir. Dental pulpa kök hücreleri ile karşılaştırıldığında dentin rejenerasyon kapasitesi daha yüksektir (59).

Diş Hekimliğinde Doku Mühendisliğinin Uygulama Alanları

Doku indüksiyonu, kondüksiyonu ve hücre nakli stratejileri ile bu gün, deri, kıkırdak gibi dokular, laboratuvarında işlendikten sonra

bazı medikal uygulamalarda kullanılabilir. Bütün bu uygulamalar “Hangi tip oral dokuların, doku mühendisliğinde işlenebilme potansiyeli vardır?” sorusunu gündeme getirmiştir. Kemik, kırık, dentin, dental pulpa ve tükürük bezi gibi oral kavitenin çeşitli dokularında çok geniş uygulama alanları bulunan doku mühendisliği, diş hekimliğinde devrim niteliğindedir.

Kemik ve kırık

Yaralanma veya konjenital hastalıklar gibi nedenlerle oluşan kemik defektlerinin, doku mühendisliği stratejilerinin herhangi birisi ile tedavisi mümkündür. Ancak çoğu vakada dişleri saran alveolar kemik dokusu, diş çekildikten sonra rezorpsiyona uğramaktadır. Bu nedenle standart olarak implantın yerleştirilmesi için kaybedilen alveolar kemik dokusunun yeniden oluşturulması ya da genişletilmesi yöntemi uygulanır. Ancak bu metodun kullanımında ciddi derecede morbidite görülebilmektedir (3). Bu nedenle implantların kemiğe tutunması için doku mühendisliği metotları araştırılmıştır (62).

Chen ve arkadaşları doku mühendisliği ile oluşturulan kemik ve implantın tek aşamada, birlikte kullanılabilmesi fikrini öne sürmüşlerdir (63). Dunn ve arkadaşları ise dental implant yapılarının ad/BMP-7 geni ile işlenmesinin alveolar defektlerin iyileşmesini, koronal yeni kemik yapımını ve kemik-implant temasını artırdığını göstermişlerdir (64). Hibi ve arkadaşları distraksiyon osteogenezisi ile birlikte otojen mezenkimal kök hücre kültürü, trombin ile aktive edilmiş trombositten zengin plazma (PRP) ve kalsiyum klorid kullanmanın iyileşme süresini kısaltmasının yanı sıra ve kemiğin üç boyutlu elde edilmesini sağlayacağını bildirmişlerdir (65). İto ve arkadaşları doku mühendisliği ve implantasyonla eş zamanlı olarak yeterli

özelliklere sahip kemik rejenerasyonunun elde edilebileceğini bildirmişlerdir (66). Sauerbier ve arkadaşları mezenkim kök hücrelerinin, sığır kaynaklı kemik partikülleri ile birlikte kullanıldığında implanta destek sağlayabilen yeterli kemiği oluşturduğunu bildirmişlerdir (58). Yamada ve arkadaşlarının enjekte edilebilir doku mühendisliği yöntemiyle oluşturulmuş kemik ve implantlar arasındaki ilişkiyi incelediği çalışmalarında; mezenkim kök hücresi ile trombositten zengin plazma kullanılan defektlerde hem kemik yoğunluğu hem de kemik-implant ara yüzeyi açısından diğer gruplardan daha fazla temas alanı elde edilmiştir (67,68,69). Xu ve arkadaşları plasental kök hücrelerinin kemik mezenkim kök hücrelerinden 3 kat daha fazla kemik ürettiğini bildirmişlerdir (70). Marei ve arkadaşları yapı iskelesi ve mezenkimal kök hücresi uygulamalarında geleneksel yöntemlere göre daha yoğun kemik rejenerasyonu elde edildiğini bildirmişlerdir (71). Schmelzeisen ve arkadaşları dişsiz atrofik posterior maksillada, uygun bir matrikse, periost kaynaklı osteoblastlar yerleştirilerek 4 ay içinde implant yerleştirilmesine izin verecek yeterli miktarda kemik rejenerasyonunu sağlamışlardır (72). Diğer yandan Zizelman ve arkadaşları otojen kemikteki rezorpsiyon oranını %29 bulurken, doku mühendisliği ile üretilen kemikteki rezorpsiyon oranını %90 olarak bulmuşlar ve doku mühendisliği ile üretilen kemiğin, otojen kemiğe kıyasla, daha yüksek oranda rezorbe olduğunu belirtmişlerdir (73).

Temporomandibular eklemde kırık yıkmı ağrıya ve yaşam kalitesinin düşmesine neden olur. Doku mühendisliği ile mekanik olarak yüklenen dokuyu tedavi ederek veya değiştirerek eklem fonksiyonlarını restore etmek amaçlanmaktadır. Laboratuvar çalışmalarındaki son gelişmelerde kırık ve fibrokartilajın klinik olarak yeterli özelliklerde

üretilebildiği bildirilmiştir. Hasar görmüş kıkırdağın tedavisinin başarısı, kök hücre teknolojisi önderliğinde biyomimetik yapı iskeleleri üretimi ve büyüme faktörlerinin doğru uygulanmasına bağlıdır (74,75).

Dentin ve dental pulpa

Her yıl milyonlarca diş, kök kanal tedavisi yöntemiyle tedavi edilmektedir. Ancak yeni tedavi eğilimlerinde rejeneratif tedavi; nekrotik pulpa dokusunun temizlenip sağlıklı pulpayla değiştirilmesi ve dişin revitalize edilmesini içermektedir (19). Enfekte kök kanal sisteminin yeniden damarlanmasını sağlayan bu teknik; kök ucunun genişletilmesiyle birlikte kök kanalının dezenfeksiyonunu, yetişkin kök hücrelerinin, yapı iskelesinin ve büyüme faktörlerinin kullanımını içermektedir (76,77).

Rebecca ve arkadaşları fare dişlerindeki pulpa perforasyonlarının doku mühendisliği ile rejenerasyonunu inceledikleri çalışmalarında, dental pulpa kök hücresi, kollajen yapı iskelesi ve dentin matriks protein 1 kullanarak, sert doku formasyonu sağlayabilecek, pulpal dokuya benzer bir dokunun oluşturulabileceğini göstermişlerdir (78). Yıldırım ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada ise “Transforming Growth Factor-β1” in pulpa iyileşmesini teşvik edici özelliğinin olduğu bildirilmiştir (79).

Tükürük bezi ve oral mukoza

Tükürük bezlerindeki doku kaybı, bireylerin yaşamını tehdit etmese de yaşam kalitesini düşüren bir durumdur (1). Tükürük bezi dokusunun veya bezin fonksiyon kaybı, baş boyun bölgesinin radyasyon tedavisi veya Sjogren sendromunun bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (4,80). Ağız kuruluşuna karşı kullanılan mevcut tedaviler arasında

yapay tükürük ve salgı artırıcı ilaçlar vardır ancak geçici çözüm getiren bu yöntemlerle hasarlı dokunun düzeltilmesi sağlanamamaktadır. Bu nedenle yeni tedavi yöntemi arayışları devam etmektedir (81).

Sugito ve arkadaşları tükürük bezine hücre naklinin mümkün olduğunu, nakledilen edilen hücrelerin hasarlı bölgeye yapıştığı ve doğal dokuyu etkilemediğini bildirmişlerdir (82). Delporte ve arkadaşları radyasyon tedavisi sonucu oluşan tükürük salgısının azalması üzerine gen terapisinin tedavi potansiyelini araştırdıkları çalışmalarında aquaporinle enfekte edilen bezlerden daha çok tükürük salgısı elde etmişlerdir (83).

Pena ve arkadaşları otojen oral mukozanın farelerdeki rejenerasyon kapasitesini ölçtükleri çalışmalarında bu yöntemin klinik olarak uygulanabilirliğini göstermişlerdir (84). Ueda ve arkadaşlarının yumuşak doku mühendisliği üzerine yaptıkları başka bir çalışmada; dil kanseri nedeniyle ağız tabanı ve mandibulası segmental olarak rezeke edilmiş bir hastada, greftlemeden 10 gün sonra implant dayanakları etrafında ve ağız tabanında normal mukoza izlenmiş ve implantlar etrafında herhangi bir mukozal enflamasyon gözlenmediği bildirilmiştir (85).

Sonuç

Diş hekimliğinde, doku mühendisliği ile elde edilmiş dokuların uygulamaları önümüzdeki yıllarda sıklıkla kullanılan yöntemlerden biri olacak gibi gözükmektedir ancak bir çok tipte hücreyi gerektiren kompleks doku defektlerinin tedavisi üzerine daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır (1). Diş gelişimi için kullanılan mühendislik metotları, tamamen fonksiyonel organlar olan kalp, böbrek ve karaciğerin in vitro üretimi için büyük öneme sahiptir (6).

Doku mühendisliğinde mikro veya nano

ölçekli doku iskelesi yapımı, biyosinyal moleküller ve kök hücre biyolojisi gibi henüz çözümlenmemiş birtakım sorunlar bulunmaktadır. Ayrıca embriyonik kök hücreleri her türlü hücre tipine dönüşebildikleri için tümör hücreleri oluşturabilme riski mevcuttur. Bu hücrelerin izolasyonları; *in vitro* döllenen sonra oluşturulan embriyodan, enjeksiyon ile yapılmaktadır ve kalan embriyo imha edilmektedir. Bu nedenle etik tartışmalar devam etmektedir (4,53,54,86). İlave olarak doku mühendisliği yöntemi ile doku nakli, hasta tedavisinde kullanım için tedavi maliyeti hala çok yüksek bir yöntemdir. Bütün bunlara rağmen doku mühendisliğindeki gelişmeler, hasarlı dokuların restorasyonu açısından oldukça ümit vericidir.

KAYNAKLAR

1. Tyagi P, Dhindsa MK. Tissue engineering and its implications in dentistry. *Indian J. Dent. Res*, 2009; 20: 222-26.
2. Nerem R, Sambanis A. Tissue engineering from biology to biological substitutes. *Tissue Eng*, 1995; 1: 3-13.
3. Kaigler D, Mooney D. Tissue engineering's impact on dentistry. *J Dent Educ*, 2001; 65: 456-62.
4. Baum BJ, Mooney DJ The impact of tissue engineering on dentistry. *J Am Dent Assoc*, 2000; 131: 309-18.
5. Ricci JL, Terracio L. Where is dentistry in regenerative medicine . *Int Dent J*, 2011; 61: 2-10.
6. Ikeda E, Tsuji T. Growing bioengineered teeth from single cells: potential for dental regeberative medicine. *Expert Opin Biol Ther*, 2008; 8; 735-44.
7. Scheller EL, Krebsbach PH, Kohn DH. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. *J Oral Rehabil*, 2009; 36; 368-89.
8. Damien CJ, Parsons JR. Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications. *J Appl Biomater*, 1991; 2; 187-208.
9. Goldberg VM, Stevenson S. Natural history of autografts and allografts. *Clin Orthop Relat Res*, 1987; 225: 7-16.
10. Blaese RM, Culver KW, Miller AD, Carter CS, Fleisher T, Clerici M, et al. T lymphocytes-directed gene therapy for ADA-SCID:Initial trial results after 4 years. *Science*, 1995; 270: 475-80.
11. Anderson WF. Human gene therapy. *Nature*, 1998; 392: 25-30.
12. Nabel GJ. Development of optimized vectors for gene therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999; 96: 324-26
13. Gleich LL, Gluckman JL, Armstrong S, Biddinger PW, Miller MA, Balakrishnan K, et al. Alloantigen gene therapy for squamous cell carcinoma of the head and neck: Results of a phase- 1 trial. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1998; 124: 1097-104.
14. Wollenberg B, Kastenbauer, Mundl H, Schaumberg J, Mayer A, Andratschke M, et al. Gene therapy-phase 1 trial for primary untreated head and neck squamous cell cancer (HNSCC) UICC stage II-IV with a single interumoral injection of hIL-2 plasmids formulated in DOTMA/Chol. *Hum Gene Ther*, 1999; 10: 141-47.
15. Mjyers JN. The use of biological therapy in cancer of the head and neck. *Curr Prob Cancer*, 1999; 23: 106-34.
16. Shea LD, et al: DNA delivery from polymer matrices for tissue engineering. *Nat Biotechnol*, 1999; 17: 551-54.
17. Urist MR. Bone: formation by auto-induction. *Science*, 1965; 150(3698): 893-99.
18. Cochran DL, Wozney JM. Biological mediators for periodontal regeneration. *Periodontol* 2000, 1999; 19: 40-58.

19. Akgün ÖM, Polat GG, Altun C. Rejeneratif Pulpa Tedavilerinde Doku Mühendisliği Uygulamaları Ado Klinik Bilimleri Dergisi, 2008; 2: 238-44.
20. Polverini PJ. The pathophysiology of angiogenesis. *Crit Rev Biol Med*, 1995; 6: 230-47.
21. Heijl L, et al: Enamel matrix derivative (emdogain) in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol*, 1997; 24: 705-14.
22. Tamura RN, et al: Coating of titanium alloy with soluble laminin-5 promotes cell attachment and hemidesmosome assembly in gingival epithelial cells: potential application to dental implants. *J Periodontol Res*, 1997; 32: 287-94.
23. Sheridan ME, Shea LD, Peters MC, Mooney DJ. Bioabsorbable polymer scaffolds for tissue engineering capable of sustained growth factor delivery. *J Control Release*, 2000; 64: 91-102.
24. Morrison G. Advances in the skin trade. *Mech Engg*, 1999; 121: 40-43.
25. Mizuno H, et al: Successful culture and sustainability in vivo of gene-modified human oral mucosal epithelium. *Hum Gene Ther*, 1999; 10: 825-30.
26. Garlic JA, Fenjves ES. Keratinocyte gene transfer and gene therapy. *Crit Rev Oral Bio Med*, 1996; 7: 204-21.
27. Brittber M, et al: Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med*, 1994; 331: 889-95.
28. Cao Y, et al: Transplantation of chondrocytes utilizing a polymer cell construct to produce tissue engineered cartilage in the shape of a human ear. *Plast Reconstr Surg*, 1997; 100: 297-304.
29. Puelacher WC, Money D, Palge KT, Upton J, Vacanti CA. Design of nasoseptal cartilage replacements synthesized from biodegradable polymers and chondrocytes. *Biomaterials*, 1994; 15: 774-78.
30. Jin QM, et al: Cementum engineering with three-dimensional polymer scaffolds. *J Biomed Mater Res A*, 2003; 67: 54-60.
31. Kim BS, Nikolovski J, Bonadio J, Smiley J, Mooney DJ. Engineered smooth muscle tissues. Regulating cell phenotype with the scaffold. *Exp Cell Res*, 1999; 251: 318-28.
32. Vacanti CA, Kim W, Upton J, Vacanti MP, Mooney D, Schloo B et al. Tissue engineered growth of bone and cartilage. *Transplant Proc*, 1993; 25: 1019-21.
33. Ishaug-Riley SL, Crane GM, Gurlek A, Miller MJ, Yasko AW, Yaszemski MJ et al. Ectopic bone formation by marrow stromal osteoblast transplantation using poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foams transplanted into the rat mesentery. *J Biomed Mater Res*, 1997; 36: 1-8.
34. Krebsbach PH, Kuznetsov SA, Sato-mura K, Emmons RV, Rowe DW, Robey PG. Bone formation in vivo: comparison of osteogenesis by transplanted mouse and human marrow stromal fibroblasts. *Transplantation*, 1997; 63: 1059-69.
35. Laurencin CT, El-Amin SF, Ibim SE, Willoughby DA, Attawia M, Allcock HR et al. A highly porous 3-dimensional polyphosphazene polymer matrix for skeletal tissue regeneration. *J. Biomed Mater Res*, 1996; 30: 133-38.
36. Gorna K, Gogolewski S. Preparation, degradation and calcification of biodegradable polyurethane foams for bone graft substitutes. *J Biomed Mater Res*, 2003; 67: 813-27.
37. Li WJ, Tuli R, Huang X, Laquerriere P, Tuan RS. Multilineage differentiation of human mesenchymal stem cells in a three-dimensional nanofibrous scaffold. *Biomaterials*, 2005; 26: 5158-66.
38. Nuttelman CR, Trpodi MC, Anseth

- Ks. In vitro osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells photoencapsulated in PEG hydrogels. *J Biomed Mater Res*, 2004; 68; 773-82.
39. Payne RG, McGonigle JS, Yaszemski MJ, Yasko AW, Mikos AG. Development of an injectable, in situ crosslinkable, degradable polymeric carrier for osteogenic cell populations. Part 3. Proliferation and differentiation of encapsulated marrow stromal osteoblasts cultured on crosslinking poly(propylene fumarate). *Biomaterials*, 2002; 23: 4381-87.
40. Marques AP, Cruz HR, Coutinho OP, Reis RL. Effect of starch-based biomaterials on the in vitro proliferation and viability of osteoblast-like cells. *J Mater Sci Mater Med*, 2005; 16: 833-42.
41. Alsberg E, Anderson KW, Albeiruti A, Franceschi RT, Mooney DJ. Cell-interactive alginate hydrogels for bone tissue engineering. *J Dent Res*, 2001; 80: 2025-29.
42. Xu WP, Zhang W, Asrican R, Kim HJ, Kaplan DL, Yelick PC. Accurately shaped tooth bud cell-derived mineralized tissue formation on silk scaffolds. *Tissue Eng Part A*, 2008; 14: 549-57.
43. Ducheyne P, el-Ghannam A, Shapiro I. Effect of bioactive glass templates on osteoblast proliferation and in vitro synthesis of bone-like tissue. *J Cell Biochem*, 1994; 56: 162-67.
44. Reilly GC, Radin S, Chen AT, Ducheyne P. Differential alkaline phosphatase responses of rat and human bone marrow derived mesenchymal stem cells to 45S5 bioactive glass. *Biomaterials*, 2007; 28: 4091-97.
45. Ohgushi H, Okumura M, Tamai S, Shors EC, Caplan AI. Marrow cell induced osteogenesis in porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate: a comparative histomorphometric study of ectopic bone formation. *J Biomed Mater Res*, 1990; 24: 1563-70.
46. Yoshikawa T, Ohgushi H, Tamai S. Immediate bone forming capability of prefabricated osteogenic hydroxyapatite. *J Biomed Mater Res*, 1996; 32: 481-92.
47. Thomson RC, Yaszemski MJ, Powers JM, Mikos AG. Hydroxyapatite fiber reinforced poly(alpha-hydroxy ester) foams for bone regeneration. *Biomaterials*, 1998; 19: 1935-43.
48. Kretlow JD, Mikos AG. Review: mineralization of synthetic polymer scaffolds for bone tissue engineering. *Tissue Eng*, 2007; 13: 927-38.
49. Segvich S, Smith HC, Luong LN, Kohn DH. Uniform deposition of protein incorporated mineral layer on threedimensional porous polymer scaffolds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2008; 84: 340-49.
50. Ciocca L, De Crescenzo F, Fantini M, Scotti R. CAD/CAM and rapid prototyped scaffold construction for bone regenerative medicine and surgical transfer of virtual planning: a pilot study. *Comput Med Imaging Graph* 2009; 33; 58-62.
51. Fortier LA. Stemcells: classification, controversies and clinical applications. *Vet Surg*, 2005; 34: 415-23.
52. Wang Y, Preston B, Guan G. Tooth bioengineering leads the next generation of dentistry. *Int J Paediatr Dent* 2012 doi:10.1111/j.1365-263x.2011.01206x (inpress)
53. Ikada Y. Challenges in tissue engineering. *Journal of the Royal Society Interface*, 2006; 22: 589-601.
54. Heng BC ve Cao T, Stanton IW, Robson P, Olsen B. Strategies for directing the differentiation of stem cells into the osteogenic lineage in vitro. *J Bone Miner Res*, 2004; 19: 1379-94.
55. Yen AH, Sharpe PT. Stem cells and

- tooth tissue engineering. *Cell Tissue Res*, 2008; 331: 359-72.
56. 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: 531-35.
57. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*, 2004; 364: 149-55.
58. Sauerbier S, Stricker A, Kuschnierz J, Bühler F, Oshima T, Xavier SP, Schmelzeisen R, Gutwald R. In vivo comparison of hard tissue regeneration with human mesenchymal stemcells processed with either the FICOLL method or the BMAC method. *Tissue Eng Part C Methods* 2010; 16; 215-23.
59. Morsczeck C, et al: Somatic stem cells for regenerative dentistry. *Clin Oral Investig*, 2008; 12: 113-18.
60. Bluteau G, Luder HU, De Bari C, Mitsiadis TA. Stem cells for tooth engineering. *Eur Cell Mater*, 2008; 16: 1-9.
61. Nakahara T. Potential feasibility of dental stem cells for regenerative therapies: stem cell transplantation and whole tooth engineering *Odontology*, 2011; 99: 105-11.
62. Yao S, Pan F, Prpic V, Wise GE. Differentiation of stem cells in the dental follicle. *J Dent Res*, 2008; 87: 767-71.
63. Chen F, et al: Anchoring dental implant in tissue engineered bone using composite scaffold: a preliminary study in nude mouse model. *J Oral and Maxillofac Surg*, 2006; 63: 586-91.
64. Dunn CA, et al: BMP gene delivery for alveolar bone engineering at dental implant defects. *Mol Ther*, 2005; 11: 294-99.
65. Hibi H, Yamada Y, Kagami H, Ueda M. Distraction osteogenesis assisted by tissue engineering in an irradiated mandible: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2006; 1: 141-47.
66. Ito K, et al; Simultaneous implant placement and bone regeneration around dental implants using tissue- engineered bone with fibrin glue, mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma. *Clin Oral Implants Res*, 2006; 17: 579-86.
67. Yamada Y, et al: Tissue-engineered injectable bone regeneration for osseointegrated dental implants. *Clin Oral Implants Res*, 2004; 15: 589-97.
68. Yamada Y, Ueda M Hibi H, Nagasaka T. Translational research for injectable tissue engineered bone regeneration using mesenchymal stemcells and platelet-rich plasma from basic research to clinical case study . *Cell Transplant*, 2004; 13: 343-55.
69. Yamada Y, Ueda M, Naiki T, Takahashi M, Hata K, Nagasaka T. Autogenous injectable bone for regeneration with mesenchymal stem cells and platelet rich plasma: tissue engineered bone regeneration. *Tissue engineered bone regeneration. Tissue Eng*, 2004; 10: 955-64.
70. Xu HH, Zhao L, Weir MD. Stem-cell-calcium phosphate constructs for bone engineering. *J Dent Res*, 2010; 89: 1482-88.
71. Marei MK, et al: Preservation and regeneration of alveolar bone by tissue-engineered implants. *Tissue Eng*, 2005; 11: 751-67.
72. Schmelzeisen R, et al: Making Bone: implant insertion into tissue-engineered bone for maxillary sinus floor augmentation – a preliminary report. *J Craniomaxillofac Surg*, 2003; 31: 34-39.
73. Zizelmann C, Schoen R, Metzger MC, Schmelzeisen R, Schramm A, Dott B, Bormann KH, Gelrich NC. Bone formation after sinus augmentation with engineered bone. *Clin Oral Impl Res*, 2007; 18: 69-73.
74. Duraine G, Hu J, Athanasoiu K. Bio-

- engineering in the oral cavity: insights from articular cartilage tissue engineering. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2011; 26: 11-24.
75. Jin X. Recent progress of researches in cartilage tissue engineering. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2011; 25: 187-92.
76. Murray PE, et al: Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *J Endod*, 2007; 33: 377-87.
77. Hacking SA, Khademhosseini A. Applications of microscale technologies for regenerative dentistry. *J Dent Res*, 2009; 88: 409-21.
78. Prescott RS, et al: In vivo generation of dental pulp-like tissue by using dental pulp stem cells, a collagen scaffold, and dentin matrix protein 1 after subcutaneous transplantation in mice. *J Endod*, 2008; 34: 421-26.
79. Yıldırım S, Alaçam A, Sarıtaş ZK, Oygür T. Transforming Growth Factor $\beta 1$ 'in pulpa tedavilerinde kullanılabilirliğinin histopatolojik olarak araştırılması. *GÜ Diş Hek Fak Derg*, 2001; 18: 123-32.
80. Xie HT, Wang GJ, Sun JG, Tucker I, Zhao XC, Xie YY et al. High performance liquid chromatographic-mass spectrometric determination of ginsenoside Rg3 and its metabolites in rat plasma using solid-phase extraction for pharmacokinetic studies. *J Chromatogr*, 2005; 818: 167-73.
81. Kagami H, Wang S, Hai B. Restoring the function of salivary glands. *Oral Dis*, 2008; 14: 15-24.
82. Sugito T, Kagami H, Hata H. Transplantation of cultured salivary gland cells into an atrophic saivary gland. *Cell Transplant*, 2004; 13: 691-99.
83. Delporte C, O'Connell BC, He X. Increased fluid secretaion after adenoviral-mediated transfer of the aquaporin-1 cDNA to irradiated rat salivary glands. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 3268-73.
84. Pena I, Junquera LM. Meana A, Garcia E, Aguilar C, Fresno FM. In vivo behavior of complete human oral mucosa equivalents: characterization in athymic mice. *J Periodont Res*, 2011; 46: 214-20.
85. Ueda M, Tohnai I, Nakai H. Tissue engineering research in oral implant surgery. *Artif Organs*, 2001; 25: 164-71.
86. Garcia-Godoy F, Murray P. Regenerative Dentistry: Translating Advancements in Basic Science Research to the Dental Practice. *J Tenn Dent Assoc*, 2010; 90: 12-8.

Yazışma adresi;**Zeliha Selin Sırık**

İstanbul Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Protetik Diş Tedavisi A.D.

34093 Fatih/İstanbul

Tel:(0212) 414 20 20 (30256)

e-posta: zelihaselin@gmail.com