

DERLEMELER

REJENERATİF PERİODONTAL TEDAVİDE DOKU MÜHENDİSLİĞİ YAKLAŞIMLARI (DERLEME)

TISSUE ENGINEERING APPROCHES IN REGENERATIVE PERIODONTAL THERAPY (REVIEW)

*Bülent KURTİŞ**

ÖZET

Periodontal doku yıkımlarının tedavisinde temel hedef kaybedilmiş olan alveoler kemik, periodontal ligament ve sement dokularının rekonstrüksiyonunu sağlamaktır. Bu amaçla defektif alanlarda hücrelerin göçünü yönlendiren rezorbe olabilen yada olmayan membranların kullanımları, çeşitli kemik greft materyallerinin rezorbe alanlara yerleştirilmesi yada bu tekniklerin kombine uygulanması gibi çeşitli yöntemler periodontal renenerasyonu sağlamak için kullanılmıştır. Ancak bu tekniklerle belirli bir oranda başarı elde edilmede yöntemlerin uygulama zorlukları ve çeşitli mekanizmalara bağlı olarak klinik ve histolojik araştırma sonuçları arasında farklılıklar görülmüş ve rejenerasyon miktarının da sınırlı düzeyde kaldığı bildirilmiştir. Son yıllarda moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler periodontal rejenerasyondaki biyolojik faktörlerin daha iyi anlaşılmasını sağlamış ve böylece rejeneratif tedavi yöntemleri için de yeni bir ufuk açmıştır. Günümüzde periodontal rejenerasyonda rol oynayan hücrelerin ve moleküllerin uyarılmasına yönelik olarak trombosit derive büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü-1, fibroblast büyüme faktörü-2, kemik morfojenetik proteinleri ve mine matriks proteinleri gibi çeşitli büyüme faktörleri ve gen tedavi yöntemleri periodontal rekonstrüktif tedavi amacıyla kullanılmaya başlanmış ve başarılı klinik ve histolojik sonuçlar elde edilmiştir. Bu derleme makalesinde periodontal hastalıklar sonucu kaybedilen dokuların rejenerasyonu amacıyla uygulanmaya başlanan doku mühendisliğine ilişkin yeni gelişmeler ve gen tedavi yöntemleri incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Periodontal hastalık, rejenerasyon, doku mühendisliği, gen tedavisi.

SUMMARY

The major goal in the treatment of periodontal tissue destruction is establish the reconstruction of tooth supproting alvolar bone, periodontal ligament and cementum. For this purpose various materials and methods such as guided tissue regeneration technique with resorbable and non-resorbable membranes, bone substitutes and autogenous block graft materials and combinations of these techniques have been used in regenerative periodontal therapy to provide the reconstruction of periodontal defects. Although successful results have been demonstrated via these techniques, due to some practical difficulties and some mechanisms, differences have been observed between clinical and histological researches and the amount of regeneration has been achieved with limited success. Recently, developments in molecular biology have been provided the better understanding the biological factors in periodontal regeneration and new treatment strategies have also been developed. Nowadays, some factors such as platelet derived growth factor, insuline-like growth factor- 1, fibroblast growth factor- 2, bone morphogenetic proteins and enamel matrix proteins and gene therapies have been used in order to stimulate of the cells and molecules which play important role in the regeneration of periodontium. The successful clinical and histological results have been observed using by these new approaches. In this review article new concepts and developments in periodontal tissue bioengineering therapy, biomaterials and gene therapies for the treatment of periodontal breakdown will be discussed.

Key words: Periodontal disease, regeneration, tissue engineering, gene therapy.

Makale Gönderiliş Tarihi : 30.10.2006

Yayına Kabul Tarihi: 25.12.2006

* *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, Doç. Dr.*

GİRİŞ

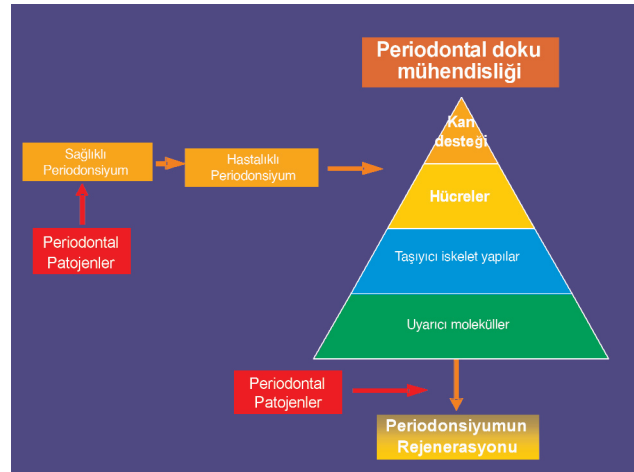
Periodontal hastalıkların patogenezi araştıran klinik, histopatolojik ve epidemiyolojik çalışmalar bu hastalığın kompleks ve multifaktöriyal yapıda olduğunu ortaya çıkarmıştır³³. Periodontal hastalıklar destek dokuların inflamatuvar reaksiyonuyla seyrederek ve sonuçta dişi destekleyen alveoler kemik, sement ve periodontal ligamentin yıkımına yol açarlar^{4,22}. Periodontal hastalıkların tedavisinde amaç, mikrobiyal etiyojijiyi ve ilgili risk faktörlerini kontrol altına alarak enfeksiyonun ilerlemesini durdurmak ve yıkıma uğramış destek periodontal dokuların yeniden sağlıklı durumlarına dönmelerini ve rejenerasyonlarını sağlamaktır. Günümüzde periodontal hastalık sonucu yıkıma uğramış sert ve yumuşak dokuların geri kazanımı amacıyla, rezorbe olabilen ve olmayan membranlarla birlikte kullanılan yönlendirilmiş doku rejenerasyonu tekniği, otojen kemik greft materyalleri, allogreftler, alloplastik greftler, xenogreftler ve büyüme faktörleri gibi çeşitli materyaller ve teknikler üzerinde çalışılmasına rağmen halen insanlarda tam ve ideal bir rejenerasyon elde edilememek mümkün olamamıştır^{35,41}. Araştırmacılar elde edilebilen bu sınırlı rejeneratif kapasitenin nedenini oral çevrede bulunan bazı sınırlayıcı faktörlere bağlamışlardır; 1. periodontal yara bölgesi, dişler üzerindeki biofilm içindeki anaerobik bakterilerle kontamine olmaktadır. 2. transmukozal sert-yumuşak doku yapısı patojenlerin yara bölgesi içine girmesini kolaylaştırmaktadır. 3. periodontal yapı içerisinde multipl bağlantı bölgelerinin bulunması ve stromal-hücreli ilişkiler dokuların karşılıklı olarak yeniden geliştirilebilmesini zorlaştırmaktadır (diş-periodontal ligament-kemik ve epitel-bağ dokusu-alveoler kemik). 4. oklüzal yüklerin hem aksiyal hem de transversal boyutta dişler üzerine gelmesi de rejenerasyonu etkileyebilmektedir^{2,26}.

Doku mühendisliği genel anlamıyla doku ve organların fonksiyonunu restore etmek, geliştirmek ve sağlığına yeniden kavuşturmak amacıyla biyoloji, tıp, diş hekimliği ve mühendislik dallarının birlikte çalıştığı multidisipliner bir bilim alanı olarak tanımlanmaktadır⁴¹. Periodontal doku mühendisliği için ise bu anlam spesifik olarak alveoler kemik, sement ve periodontal ligamenti içeren dokuları kapsamaktadır¹². Periodontoloji alanında dental doku mühendisliği önceki yıllarda sadece deneysel bir ilgi alanıyken günümüzde insanlara uygulanan ve önemli başarılar sağlayan bir tedavi yaklaşımı olmuştur.

Periodontal Rejenerasyonun Elde Edilmesi ve Rejeneratif Hücre Tedavisi

Periodontal dokuların rejenerasyonunda bazı temel komponentler bulunmaktadır bunlar; hücreler, kanlanma

desteği, taşıyıcı iskelet yapılar ve uyarıcı moleküllerdir⁴¹. Bu yapıların herbiri iyileşme prosesinde ve rejenerasyonda önemli role sahiptirler (Şekil 1). Hücreler yeni doku gelişimi ve diferansiasyonunu sağlarlar, büyüme faktörleri veya morfojenler hücreli aktiviteyi modüle ederler ve matris üretimi sağlarlar, anjiyojenik uyarılarla oluşturulan yeni kanlanma ağı doku gelişimi ve homeostazisini sağlar ve son olarak destek taşıyıcı iskelet yapılar da yukarıda belirtilen ve rejenerasyon için önemli süreçleri kolaylaştırmak amacıyla çeşitli biyolojik/biyoaktif moleküllerin defektif alanlara taşınmasına yardım ederek üç boyutlu bir yapı şablonunun oluşturulmasını sağlar⁴¹. Periodontal rejenerasyonun elde edilmesindeki en önemli sınırlayıcı faktör ortamdaki mikrobiyal perio-patojenlerin yara bölgesine kontamine olmasıdır. Bu nedenle optimal düzeyde bir rejenerasyon elde edebilmek için ortamdaki mikrobiyal yapıyı kontrol altına alacak antimikrobiyal yaklaşımların mutlaka uygulanması gerekmektedir³⁸.



Şekil 1. Periodontal doku mühendisliği için gerekli önemli komponentler.

Periodontal destek dokular embriyonik orijinlerine bağlı olarak mezenşimal ve epitelyal karşılıklı iletişimlerle ortaya çıkarlar ve periodontal rejenerasyon için gerekli olaylar zinciri de birbirinden bağımsız ancak birbirine bağlı süreçlerdir; osteogenesis, sementogenesis ve bağ dokusu oluşumu¹³. Dişeti bağ dokusunun ve alveoler kemiğin hücreli yapıları; fibroblastlar, ostoblastlar ve osteoblast prekürsör hücreleri, sementoblastlar ve sementoblast prekürsör hücreleri, makrofajlar, mast hücreleri, osteoklastlar ve odontoklastlar, çeşitli inflamatuvar hücreler, kan damarları ve sinirleri oluşturan hücrelerden oluşmaktadır³⁷. Fibroblastlar irregüler şekilli hücrelerdir ve bağ dokusunun liflerini ve ana maddenin yapımını sağlayarak ve eski lifleri ortadan kaldırarak bağ dokusunun remodelingi ve korunmasını temin ederler. Periodontal ligament dokusunda ise fibroblastlar, makrofajlar, diferansiye olmamış

ektomezenşimal hücreler, sementoblastlar ve sementoklastlar, osteoblastlar ve osteoklastlar, Mallasezin epitelyal artık hücreleri ve damarsal - sinirsel elemanlarının mevcudiyeti üç farklı dokunun, periodontal ligament, sement ve alveoler kemik dokusunun oluşturulabilmesi ve muhafaza edilebilmesine olanak sağlamaktadır^{3,37}. Bu amaçla kaybedilen destek periodontal dokuların yeniden elde edilebilmesine yönelik ve biyolojik felsefesi ilk olarak Melcher tarafından tarif edilen selektif ve stimülatif yaklaşımlar kullanılmaktadır²⁷. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu ve hücre re-popülasyonu yaklaşımı bu felsefeden orijin almış ve bu teknikle rezorbe olabilen yada olmayan çeşitli bariyer membranlar kullanılarak epitelyal ve dişeti bağ dokusu hücrelerinin periodontal defektif bölgeye re-popülasyonu engellenirken defekt bölgesi içine periodontal ligament hücreleri, sementoblastlar ve osteoblastların selektif migrasyonu, defekt içerisinde re-popülasyonu, proliferasyonu ve diferansiyasyonuna izin verilerek destek dokuların rekonstrüksiyonu sağlanmaya çalışılmıştır^{5,11}. Son yıllarda Lee ve arkadaşlarının²⁴ kullandıkları kemik morfogenetik protein-2 (KMP-2) içeren membranlar ile in vivo olarak iyi düzeyde kraniyofasial kemik rejenerasyonu elde edilmiştir. Biyoaktif moleküller ile fiziksel bariyerlerin kombine olarak kullanıldığı selektif ve stimülatif yaklaşımlar doku mühendisliği kullanılarak yapılacak periodontal tedavi yöntemleri için çeşitli seçenekler sağlamaktadır⁴⁴. Doku mühendisliği amacıyla hücre tedavisi son yıllarda periodontoloji alanında da kullanılmaya başlanmıştır. Izumi ve arkadaşlarının¹⁶ yaptıkları bir çalışmada insan oral mukoza örneği ex vivo olarak elde edilebilmiş ve epidermal / dermal komponentlerden oluşan geliştirilmiş mukoza insanlarda intra-oral greftleme amacıyla kullanılmıştır. Somerman ve arkadaşları³⁹ hücre tedavisi yönteminin klonlanmış sementoblastlar ile potansiyel olarak kullanılabilirliğini göstermişlerdir. Zhao ve arkadaşlarının⁵⁰ ratlarda yaptıkları bir çalışmada, ratların alt çene molar dişlerinde oluşturulan fenestrasyon kemik defektlerine tek başına rezorbe olabilen polilaktit-ko-glikolid asit (PLGA) sponj, dental folikül hücresi eklenmiş PLGA sponj ve

klonlanmış sementoblast hücresi transferi yapılmış PLGA taşıyıcılar transplante edilmiştir. Altı hafta sonra yapılan histolojik incelemelerde sementoblastların periodontal yara bölgesindeki mineralizasyonu ve onarımı önemli ölçüde indüklediği ve dental folikül hücrelerinin ise periodontal iyileşmeyi inhibe ettiği bulgulanmıştır.

Periodontal Rejenerasyonda Büyüme Faktörleri ve Biyoaktif Moleküller

Polipeptit hormonlar olan büyüme faktörleri periodontal ligament hücreleri (PLH), sementoblastlar (SB) ve osteoblastlar (OB) ın migrasyonu, kemotaksisi, proliferasyonu, diferansiyasyonu ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin üretimi gibi hücreyel olayları stimüle ederler⁴¹ (Tablo I). Periodontal rejenerasyon elde etmek için kullanılan bu biyoaktif moleküllerin in vivo etkinliklerini artırmak amacıyla çeşitli taşıyıcı materyaller içerisine yerleştirilerek kontrollü salınım yapmaları sağlanmaktadır. Biyoaktif moleküllerin taşıyıcılar içerisine transferi ya fabrikasyon aşamasında ya da fabrikasyondan sonra yapılmaktadır^{10,43}. Büyüme faktörlerinin salınım hızı taşıyıcının tipine ve degradasyon hızına ve büyüme faktörlerinin taşıyıcının porları yoluyla difüzyon hızına bağlıdır⁴¹. Wei ve arkadaşlarının⁴⁵ yaptığı bir çalışmada insan paratiroid hormonu (PTH) rezorbe olabilen PLGA mikrokürecikler içerisine katılarak PTH ın kontrollü olarak salındığı tespit edilmiş ve PLGA mikroküreciklerin PTH ın biyoaktivitesini koruduğu bildirilmiştir. Murphy ve arkadaşları²⁸ vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEBF) PLGA taşıyıcılarından 15 gün süreyle salınabildiğini göstermişlerdir. Yine PLGA mikrokürecikler içerisine katılan insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IBF-1) ve transforming büyüme faktörü-1 (TBF-1) nün de 15 günün üzerinde bir sürede yavaş yavaş salınabildiği gösterilmiştir⁹. IBF-1 ve TBF-1 içeren PLGA mikroküreciklerinin kondrositlerle birlikte yapılan in vitro kültür çalışmalarında kontrollere göre hücre sayısında ve glikozaminoglikan üretiminde artış olduğu görülmüştür⁹. Yapılan çalışmalarda bazı biyoaktif moleküllerin periodontal yara iyileşmesini güçlendirdiği tespit edilmiş-

Tablo I. Büyüme faktörlerinin periodontal ligament hücreleri (PLH), sementoblastlar (SB) ve osteoblastlar (OB) üzerine etkileri.

Büyüme Faktörünün Etkisi	Migrasyon			Proliferasyon			Diferansiyasyon			Matriks Gen Ekspresyonu		
	PLH	SB	OB	PLH	SB	OB	PLH	SB	OB	PLH	SB	OB
Hücre Tipi												
TDBF	++	?	++	+++	+++	+++	-	-	-	++	+/-	+
IBF-1	++	?	++	+	++	+	-	?	+	+	+/-	++
FBF-2	+++	?	+/-	+++	?	+++	-	?	-	+/-	?	+/-
TBF- β	+	?	++	++	++	+++/-	+	-	+/-	++	+/-	++
KMP	?	?	++	0	-	+	-	+	+++	?	++	++
MMP	++	?	++	++	++	++	+	+/-	+	+	++/-	++/-

(-): inhibisyon; (0): etkisiz; (+): etkili; (?): etkisi bilinmiyor; TDBF: trombosit derive büyüme faktörü; IBF: insülin benzeri büyüme faktörü; FBF: fibroblast büyüme faktörü; TBF- β : transforming büyüme faktörü; KMP: kemik morfogenetik protein; MMP: mine matriks proteinleri (Taba M Jr ve ark., Orthod Craniofac Res 8: 292-302, 2005).

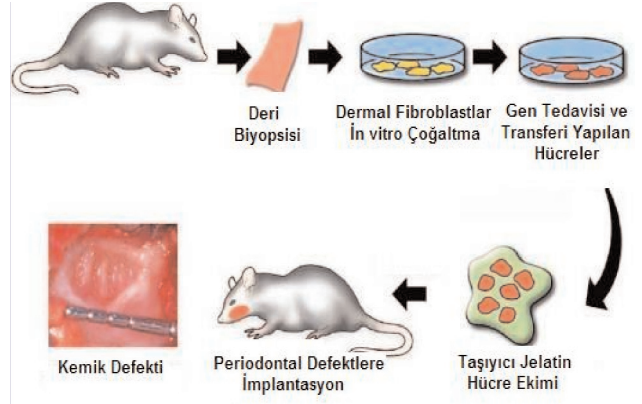
tır^{8,20,31}. Trombosit derive büyüme faktörü (TDBF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IBF-1), fibroblast büyüme faktörü-2 (FBF-2), transforming büyüme faktörü-1 (TBF-1) kemik morfojenetik proteinleri-2,4,7,12 (KMP ler) ve mine matriks proteinleri (MMP ler) gibi komponentleri içeren bu biyoaktif moleküllerin periodontal rejenerasyonun stimülasyonunu pozitif yönde etkiledikleri bildirilmiştir^{14,20,24,41}. TDBF ve IBF-1 faktörlerinin kombine kullanıldığı bir çalışmada şiddetli periodontal hastalık bulunan bireylerde alveoler kemik onarımının stimüle edilebildiği gösterilmiştir¹⁵. Periodontal onarımda anjiyojenik etkili faktörlerinde oldukça önemli olduğu araştırmacılar tarafından vurgulanmış ve bunlar içerisinde FBF-2 nin potent anjiyojenik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir²⁹. Yuan ve arkadaşları⁴⁹ tarafından yapılan bir çalışmada MMP (Emdogain) lerinin periodontal yara iyileşmesinde anjiogenezisi indüklediği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda MMP lerinin in vivo ve in vitro olarak anjiyojenik etkiye sahip olduğu bildirilirken hızlı iyileşmenin etkisinin sadece anjiogenezin indüklenmesiyle olmadığı ve MMP lerin iki önemli mekanizmaya sahip oldukları bildirilmiştir. Bunlardan birincisi; MMP lerle muamele edildiğinde periodontal ligament hücreleri ortama TBF, TDBF, IL-6 gibi büyüme faktörleri salmakta ve yara iyileşme hızı artmaktadır²⁵. İkincisi; periodontal yara iyileşmesi sırasında MMP leri perio-patojen mikroorganizmaların (*A.actinomycescomitans*, *P.gingivalis*, *P.intermedia*) gelişimini inhibe etmekte ve normal flora üzerine ise olumsuz bir etkileri bulunmamaktadır⁴⁰. Diğer bir anjiyojenik faktör olan VEBF leri direkt olarak taşıyıcılarla veya gen tedavileri kullanılarak yara bölgelerinde yeni damar gelişimi sağlanmaya çalışılmıştır. TDBF ve VEBF lerinin kombine kullanıldığı bir çalışmada anjiogenezisin indüklenerek kan damarı sayısının önemli ölçüde arttığı ve doku matürasyonunun da hızlandığı bildirilmiştir³⁶.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda kemik dokusu tamiri ve rejenerasyonuna olumlu katkılarından dolayı trombositten zengin plazma (TZP) uygulamaları tek başına veya osteokondüktif özellikteki kemik grefti materyalleri ile birlikte yeni kemik miktarının artırılmasında alternatif yeni bir teknik olarak kullanılmaya başlanmıştır^{1,30}. TZP , bir dizi santrifügasyon işlemiyle hastanın kendi kanından otojen olarak elde edilen yüksek trombosit konsantrasyonuna sahip plazmadır³⁰. Özellikle maksillofasiyal cerrahi ve periodontal cerrahide TZP'nin kullanımının temel amacı, kemik defekti bölgesindeki platelet miktarını artırmaktır. Plateletler, hem pıhtı formasyonundaki rolleri, hem de yara iyileşmesini başlatan ve destekleyen büyüme faktörlerini salgılamalarıyla, yara iyileşmesinde primer olarak rol oynarlar³². Platelet sayısının yara bölgesinde ar-

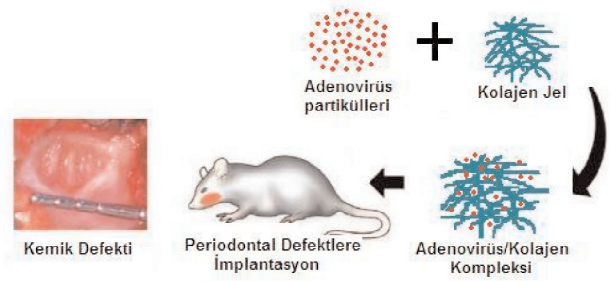
tırılması, platelet kaynaklı büyüme faktörlerinin de yara bölgesindeki lokal konsantrasyonunun artırılması anlamına gelmektedir. Böylece yara iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunun başlangıcını hızlandırmak ve sonuçta elde edilecek yeni kemiğin kalite ve kantitesini artırmak hedeflenir¹⁷. TDBF, TBF- b, IBF, endotelial büyüme faktörü (EBF), FBF ve VEBF trombositlerin içeriğinde bulunan ve dolayısıyla TZP içeriğinde saptanmış başlıca büyüme faktörleridir^{23,30,46}. Marx ve arkadaşları³⁰, otojen kansellöz kemik iliği greftlerinin TZP ile kombine uyguladıkları kontrollü klinik çalışmalarının postoperatif 6. ay sonuçlarında, TZP ilavesiyle tek başına otojen greft uygulamasına göre radyografik olarak görüntülenen kemik mineralizasyonunda 1.62-2.16 kat daha üstünlük ve trabeküler kemik densitesinde de %15- 30 lik artış elde edildiğini bildirmişlerdir. Wiltfang ve arkadaşlarının⁴⁷, 45 maksiller sinüs yükseltme operasyonunda TZP ve beta trikalsiyum fosfat (b-TCP) kombinasyonu uyguladıkları çalışmalarının 6. ay sonuçlarında TZP ilavesi ile %8-10 oranında daha fazla kemik oluşumu elde edildiği bildirilmiştir. Velich ve arkadaşlarının⁴² yaptıkları bir seri vaka çalışmasında, malign oluşumların eliminasyonu sonucu oluşan mandibular defektlerde hidroksiapatit kemik grefti, b-TCP ve b-TCP ile TZP kombinasyonu uygulanmış; ortopantomograf, 2 ve 3 boyutlu bilgisayarlı tomografi değerlendirmelerinde bütün gruplarda 6. ve 12. aylarda iyi sonuçlar saptanmasına rağmen, en hızlı kemik olgunlaşması ve şekillenmesinin b-TCP ile TZP kombinasyonu uygulanan bölgelerde görüldüğü bildirilmiştir. Köpeklerde oluşturulan mandibular defektlerde b-TCP esaslı kemik grefti materyalinin TZP ile birlikte ya da yalnız başına uygulanmasının değerlendirildiği bir çalışmada, TZP'nin etkileri ve yeni oluşan kemiğin kalitesi histolojik ve histomorfometrik metodlarla incelenmiş ve TZP' nin 6. ve 12. hafta incelemelerinde sadece b-TCP uygulanan bölgelere kıyasla istatistiksel olarak daha hızlı kemik formasyonu sağladığı bildirilmiştir²¹. Bugüne kadar yapılan klinik ve hayvan çalışmalarının sonuçları değerlendirildiğinde, TZP'nin kemik defektlerinde özellikle erken iyileşme dönemindeki olumlu katkıları açıkça görülmesine rağmen yeni elde edilen kemik kalite ve kantitesi üzerindeki olumlu etkilerin erken dönem ile sınırlı kaldığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu sınırlı etkinin temel sebebinin TZP içeriğindeki trombositlerin ömrünün yaklaşık 10 gün olması ve trombositlerden kaynaklanan büyüme faktörlerinin direkt etkilerinin de yaklaşık 5-6 günden sonra yavaş yavaş kaybolması ile açıklamışlardır³⁰. Son yıllarda araştırmacılar TZP'nin tekrarlayan topikal uygulamalarının yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmalar üzerinde durmaktadırlar⁶.

Periodontal Doku Mühendisliğinde Gen Tedavileri

Yapılan *in vivo* çalışmalarda büyüme faktörlerinin yarılama ömürlerinin kısa süreli olması ve dolayısıyla etkilerinin geçici olmasından dolayı konvansiyonel cerrahi tedaviler sonucu periodontal rejenerasyon elde edebilmek mümkün olamamaktadır⁴¹. Doku rejenerasyonunu artırmak için yüksek konsantrasyonlarda büyüme faktörlerine ihtiyaç olmaktadır⁴. Bu nedenle ilave lokal büyüme faktörü üretimini sağlamak amacıyla gen transfer yöntemleri üzerinde araştırmalar yapılmaktadır^{31,41}. Gen tedavisi, istenilen biyoaktif molekülün yüksek seviyede salgılanmasını sağlamak ve spesifik biyolojik etkiyi artırmak amacıyla hücrelerin içerisine ya direkt olarak ya da indirekt olarak genlerin yerleştirilmesini içermektedir⁴¹. Gen tedavisinin temel amacı defektif mutant allelin fonksiyonel olanıyla desteklenmesi ve konak cevabının indüklenmesidir⁴¹. Genetik bilgilerin hedef hücrelere transferi işlemi içeren gen tedavisi viral ve non-viral vektörlerin kullanımı vasıtasıyla sağlanmaktadır³⁵. Viral vektörler; retrovirüsleri adenovirüsleri ve adeno-ilişkili virüsleri içerirken, non-viral vektörler; plasmidler ve DNA polimer komplekslerini içermektedir⁴⁶. Retrovirüsler RNA ları, reverse transkriptas ve integras enzimleriyle birlikte hedef hücrenin içerisine girerler ve ilk olarak reverse transkriptas enzimi retrovirüs RNA sından bir DNA kopya oluşturur takiben integras enzimi bu kopya DNA yı hedef hücrenin DNA sına ekler³⁴. Adenovirüsler DNA içerirler ve bu DNA lar hedef hücre içerisine sokulur ve takibinde çekirdekleri hedef hücreye transfer edilir⁴⁸. Doku mühendisliğinde periodontal defektlere büyüme faktörü uygulaması amacıyla *ex vivo* ve *in vivo* transfer teknikleri gen tedavi yöntemleri olarak uygulanmaktadır^{18,35,41} (Şekil 2 ve Şekil 3). Defekt bölgesinin özelliklerine göre seçilecek metotta belirlenir, örneğin horizontal tek veya iki duvarlı defektler taşıyıcı destek yapılarına ihtiyaç duyarlar. Burada *ex vivo* gen transfer yöntemi uygulanabilir ya da taşıyıcıya gerek bırakmayan diğer tip defektlerde ise *in vivo* gen transfer yöntemi kullanılabilir³⁵. Jin ve arkadaşlarının¹⁸ yaptıkları bir çalışmada alveoler kemik defektlerindeki doku gelişimini artırmak amacıyla *ex vivo* olarak kemik morfogenetik protein-7 (KMP-7) gen transferi uygulanmıştır. Bu amaçla deri biyopsileri alınarak elde edilen deri fibroblastları *in vitro* ortamda çoğaltılmış ve rat KMP-7 ile kodlanan rekombinant adenovirüsler (AdCMVBMP-7) ile inkübe ve infekte edilmişlerdir. Gen tedavi vektörleri ile muamele edilen deri fibroblastları daha sonra jelatin taşıyıcılara ekilmiş ve takiben de rat çenelerinde oluşturulan geniş alveoler kemik defektlerine transplante edilmiştir. Sonuçta Ad-KMP-7 gen transferi ile tedavi edilen kemik defektlerinde hızlı kondrogenesiz, takiben osteogenesisiz, sementogenesisiz ve



Şekil 2. Periodontal alveoler kemik defektlerine *ex vivo* gen transferi. Deri biyopsi örneklerinin alınmasını takiben dermal fibroblastlar kültür ortamında çoğaltılır ve rekombinant adenovirüslerle (Ad-BMP7) gen transferi uygulanır. 24 saat sonra hücreler jelatin sponjlarla ekilerek ratlarda oluşturulan mandibuler kemikdefektlerine yerleştirilir. Histolojik, histomorfometrik ve immünohistokimyasal analizlerin yapılması için defekt bölgesinden blok biyopsiler alınır (Jin QM ve ark., J Periodontol 74: 202-213, 2003).



Şekil 3. Periodontal alveoler kemik defektlerine *in vivo* gen transferi. Bu yaklaşımda adenovirüsler kolajen jeller vasıtasıyla direkt olarak kemik defektinin içerisine yerleştirilir (Ramseier CA ve ark., Dent Clin North Am 50: 245-263, 2006).

fonksiyonel periodontal ligament oluşumunun indüklendiği bulgulararak periodontal kemik defektlerinin doku mühendisliği ile tedavi edilebileceği gösterilmiştir (Şekil 2). Dunn ve arkadaşları⁷ tarafından dental implantlar çevresindeki defektlerde yapılan bir çalışmada kolajen jel taşıyıcılarla birlikte *in vivo* Ad/BMP-7 gen transferi yöntemi kullanılmış ve implant çevresindeki kemik defektlerinde başarılı düzeyde bir rejenerasyon elde edilmiştir. Yine Jin ve arkadaşları¹⁹ tarafından yapılan bir çalışmada TDBF nün dişeti, alveoler kemik ve sement rejenerasyonunu artırmada güçlü potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir. TDBF-B ile kodlanan adenovirüsler ile tedavi edilen periodontal defektlerde kontrol vektörleri ile kıyaslandığında yaklaşık olarak 4 kat daha fazla kemik yapımı ve 6 katta daha fazla sement onarımı gözlenmiştir.

Periodontal Rejeneratif Tedavilerde Yarın

Geçen on yıl içerisinde alveoler kemik defektlerinin rejenerasyonu amacıyla uygulanan tedavi yöntemlerinde büyük ilerlemeler katedilmiştir. Hücreler ve proteinlerin transferi amacıyla kullanılan polimerik ve seramik taşıyıcı destek yapılar ve gen transfer yöntemleri konusunda büyük gelişmeler olmuştur ve olmaya da devam etmektedir. Yine hücre proliferasyonu, diferansiasyonu, matris biyosentezi ve anjiogenesisini hızlandıran ve artıran uyarıcı moleküllerin ve büyüme faktörlerinin (proteinler veya gen tedavileri yoluyla) periodontal rejenerasyonda olumlu etkilerinin tespit edilmesi araştırmacılara cesaret vermiş ve yeni moleküller ve biyolojik faktörlerinin bulunmasına yönelik araştırmalara hız verilmiştir. Periodontal rejenerasyonun ideal ölçülerde elde edilebilmesine engel olabilecek en önemli faktör dişler çevresinde yoğun olarak bulunan mikrobiyal popülasyondur ve bu popülasyona karşı konak cevabının güçlendirilmesi önemli bir stratejik tedavi yaklaşımıdır. Bu nedenle araştırmacılar daha güvenli bir rejeneratif tedavi sonucu elde edebilmek için hem anti-infektif ajanlar hem de konak modülasyonu sağlayan tedavi yöntemleri üzerinde iki yönlü yeni materyal ve yöntemler üzerinde çalışmalarına devam etmektedirler. Önümüzdeki yıllarda nanoteknoloji biliminin ilerlemesine paralel olarak diş hekimliği, tıp ve mühendislik gibi farklı bilim dallarının multidisipliner çalışmaları ile çok yeni ve farklı rejeneratif tedavi yöntemleri geliştirilmeye devam edilecektir.

KAYNAKLAR

1. Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *J Oral Maxillofac Surg* 60: 1176-1181, 2002.
2. Anusaksathien O, Giannobile WV. Growth factor delivery to re-engineer periodontal tissues. *Curr Pharm Biotechnol* 3: 129-139, 2002.
3. Aukhil I. The potential contributions of cell and molecular biology to periodontal tissue regeneration. *Curr Opin Dent* 2: 91-96, 1992.
4. Brown LJ, Loe H. Prevalence, extent, severity and progression in periodontally disease. *Periodontology* 2000 2: 57-71, 1993.
5. Christgau M, Bader N, Felden A, Gradl J, Wenzel A, Schmalz G. Guided tissue regeneration in intrabony defects using an experimental bioresorbable polydioxanon (PDS) membrane. A 24-month split-mouth study. *J Clin Periodontol* 29: 710-723, 2002.
6. Crovetti G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B, Moroni M, Carabelli A. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci* 30: 145-151, 2004.
7. Dunn CA, Jin Q, Taba MJr, Franceschi RT, Bruce Rutherford R, Giannobile WV. BMP gene delivery for alveolar bone engineering at dental implant defects. *Mol Ther* 11: 294-299, 2005.
8. Earthman JC, Li Y, VanSchoiack LR, Sheets CG, Wu JC. Reconstructive materials and bone tissue engineering in implant dentistry. *Dent Clin North Am* 50: 229-244, 2006.
9. Elisseff J, McIntosh W, Fu K, Blunk BT, Langer R. Controlled release of IGF-1 and TGF-beta 1 in a photopolymerizing hydrogel for cartilage tissue engineering. *J Orthop Res* 19: 1098-1104, 2001.
10. Fournier N, Doillon CJ. Biological molecule-impregnated polyester: an in vivo angiogenesis study. *Biomaterials* 17: 1659-1665, 1996.
11. Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J. New attachment formation as the results of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 11: 494-503, 1984.
12. Giannobile WV. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone* 19: 23-37, 1996.
13. Giannobile WV, Somerman MJ. Growth and amelogenin-like factors in periodontal wound healing. A systematic review. *Ann Periodontol* 8: 193-204, 2003.
14. Giannobile WV, Lee CS, Tomala MP, Tejada KM, Zhu Z. Platelet derived growth factor (PDGF) gene delivery for application in periodontal tissue engineering. *J Periodontol* 72: 815-823, 2001.
15. Howell TH, Fiorellini JP, Paquette DW, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 68: 1186-1193, 1997.
16. Izumi K, Feinberg SE, Iida A, Yoshizawa M. Intraoral grafting of an ex vivo produced oral mucosa equivalent: a preliminary report. *Int J Oral Maxillofac Surg* 32: 188-197, 2003.
17. Jakse N, Tangl S, Gilli R, Berghold A, Lorenzoni M, Eskici A, Haas R, Pertl C. Influence of PRP on autogenous sinus grafts. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res* 14: 578-583, 2003.
18. Jin QM, Anusaksathien O, Webb SA, Rutherford RB, Giannobile WV. Gene therapy of bone morphogenetic protein for periodontal tissue engineering. *J Periodontol* 74: 202-213, 2003.
19. Jin Q, Anusaksathien O, Webb SA, Printz MA, Giannobile WV. Engineering of tooth-supporting structures by delivery of PDGF gene therapy vectors. *Mol Ther* 9: 519-526, 2004.
20. Kao RT, Conte G, Nishimine D, Dault S. Tissue engineering for periodontal regeneration. *Calif Dent Assoc* 33: 205-215, 2005.
21. Kovacs K, Velich N, Huszar T, Fenyves B, Suba Z, Szabo G. Histomorphometric and densitometric evaluation of the effects of platelet-rich plasma on the remodelling of b-tricalciumphosphate in beagle dogs. *J Craniofac Surg* 16: 150-154, 2005.
22. Kocher T, König J, Dzierzon U, Sawaf H, Plagmann HC. Disease progression in periodontally treated and un-treated patients: a retrospective study. *J Clin Periodontol* 27: 866-872, 2000.
23. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg* 58: 297-300, 2000.
24. Lee YM, Nam SH, Seol YJ, Kim TI, Lee SJ, Ku Y, Rhyu IC, Chung CP, Han SB, Choi SM. Enhanced bone augmentation by controlled release of recombinant human bone morphogenetic protein-2 from bioabsorbable membranes. *J Periodontol* 74: 865-872, 2003.

25. Lyngstadaas SP, Lundberg E, Ekdahl H, Andersson C, Gestrelus S. Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol* 28: 181-188, 2001.
26. Mc Culloch CA. Basic considerations in periodontal wound healing to achieve regeneration. *J Periodontol* 1: 16-25, 2000.
27. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 47: 256-260, 1976.
28. Murphy WL, Peters MC, Kohn DH, Mooney DJ. Sustained release of vascular endothelial growth factor from mineralized poly(lactide-co-glycolide) scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials* 21: 2521-2527, 2000.
29. Murakami S, Takayama S, Ikezawa K, Shimabukuro Y, Kitamura M, Nozaki T, Terashima A, Asano T, Okada H. Regeneration of periodontal tissues by basic fibroblast growth factor. *J Periodontol Res* 34: 425-430, 1999.
30. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-Rich Plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85: 638-646, 1998.
31. Nakahara T. A review of new developments in tissue engineering therapy for periodontitis. *Dent Clin North Am* 50: 265-276, 2006.
32. Ogino Y, Ayukawa Y, Tsukiyama Y, Koyano K. The effect of platelet-rich plasma on the cellular response of rat bone marrow cells in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 100: 302-307, 2005.
33. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol* 2000 14: 216-248, 1997.
34. Partridge KA, Oreffo RO. Gene delivery in bone tissue engineering: progress and prospects using viral and non-viral strategies. *Tissue Eng* 10: 295-307, 2004.
35. Ramseier CA, Abramson ZR, Jin Q, Giannobile WV. Gene therapeutics for periodontal regenerative medicine. *Dent Clin North Am* 50: 245-263, 2006.
36. Richardson TP, Peters MC, Ennett AB, Mooney DJ. Polymeric system for dual growth factor delivery. *Nat Biotechnol* 19: 1029-1034, 2001.
37. Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontology* 2000 13: 91-120, 1997.
38. Slots J, MacDonald ES, Nowzari H. Infectious aspects of periodontal regeneration. *Periodontology* 2000 19: 164-172, 1999.
39. Somerman MJ, Ouyang HJ, Berry JE, Saygin NE, Strayhorn CL, D'Errico JA, Hullinger T, Giannobile WV. Evolution of periodontal regeneration: from the roots' point of view. *J Periodontol Res* 34: 420-424, 1999.
40. Sculean A, Auschill TM, Donos N, Brex M, Arweiler NB. Effect of an enamel matrix protein derivative (Emdogain) on ex vivo dental plaque vitality. *J Clin Periodontol* 28: 1074-1078, 2001.
41. Taba M Jr, Jin Q, Sugai JV, Giannobile WV. Current concepts in periodontal bioengineering. *Orthod Craniofac Res* 8: 292-302, 2005.
42. Velich N, Nemeth Z, Hrabak K, Suba Z, Szabo G. Repair of bony defect with combination biomaterials. *J Craniofac Surg* 15: 11-15, 2004.
43. Whang K, Tsai DC, Nam EK, Aitken M, Sprague SM, Patel P, Healy KE. Ectopic bone formation via rhBMP-2 delivery from porous bioabsorbable polymer scaffolds. *J Biomed Mater Res* 42: 491-499, 1998.
44. Wikesjö UM, Lim WH, Thomson RC, Cook AD, Wozney JM, Hardwick WR. Periodontal repair in dogs: evaluation of a bioabsorbable space-providing macroporous membrane with recombinant human bone morphogenetic protein-2. *J Periodontol* 74: 635-647, 2003.
45. Wei G, Pettway GJ, McCauley LK, Ma PX. The release profiles and bioactivity of parathyroid hormone from poly(lactide-co-glycolic acid) microspheres. *Biomaterials* 25: 345-352, 2004.
46. Weibrich G, Kleis WKG, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Cranio-Maxillofacial Surg* 30: 97-102, 2002.
47. Wiltfang J, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Nkenke E, Zimmermann R, Kessler P. Sinus floor augmentation with b-tricalciumphosphate (b-TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation?. *Clin Oral Implants Res* 14: 213-218, 2003.
48. Worgall S. A realistic chance for gene therapy in the near future. *Pediatr Nephrol* 20: 118-124, 2005.
49. Yuan K, Chen CL, Lin MT. Enamel matrix derivative exhibits angiogenic effect in vitro and in a murine model. *J Clin Periodontol* 30: 732-738, 2003.
50. Zhao M, Jin Q, Berry JE, Nociti FH Jr, Giannobile WV, Somerman MJ. Cementoblast delivery for periodontal tissue engineering. *J Periodontol* 75: 154-161, 2004.

Yazışma adresi

Doç. Dr. Bülent Kurtiş
Gazi Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı,
Bışkek Cad. 82. Sok. Emek-Ankara
Tel: 0 (312) 203 42 40
e-posta: mbulent@gazi.edu.tr