

Primjena botulinum toksina i hijaluronske kiseline u dentalnoj medicini

Mesarić, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:789264>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Iva Mesarić

**PRIMJENA BOTULINUM TOKSINA I
HIJALURONSKE KISELINE U DENTALNOJ
MEDICINI**

Diplomski rad

Zagreb, 2020.

Rad je ostvaren u Zavodu za mobilnu protetiku Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Mentor rada: Ivica Pelivan, doc. dr. sc., Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Lektor hrvatskog jezika: mag. educ. philol. croat. et mag. educ. philol. angl. Barbara Kružić,
Biševska 11, 31 000 Osijek, 0958450619

Lektor engleskog jezika: prof. Dragica Vugrin, Josipa Bajkovca 25, Savska ves, 40000 Čakovec,
098698055

Sastav Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. _____
2. _____
3. _____

Datum obrane rada: _____

Rad sadrži: 43 stranice

1 CD

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora diplomskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

Zahvala:

Zahvaljujem svom mentoru doc. dr. sc. Ivici Pelivanu na pomoći, podršci i prenesenom znanju tijekom izrade diplomskog rada i studija.

Zahvaljujem svojim roditeljima, bratu, dečku i prijateljima na podršci i razumijevanju tijekom studija i života.

PRIMJENA BOTULINUM TOKSINA I HIJALURONSKE KISELINE U DENTALNOJ MEDICINI

Sažetak

Početak 21. stoljeća ujedno obilježava i početak primjene botulinum toksina i hijaluronske kiseline u dentalnoj medicini. Prve spoznaje započinju u 19. stoljeću. Justinius Kerner 1817. godine prvi puta spominje botulinum toksin kao uzročnik bolesti botulizma, dok o prvim spoznajama hijaluronske kiseline govori francuski znanstvenik Portes 1880. godine. Botulinum toksin sintetiziraju gram-pozitivne anaerobne bakterije *Clostridium botulinum*. Sintetizira se kao jednostruki polipeptidni lanac koji aplikacijom u ciljano tkivo inhibira oslobađanje acetilkolina iz presinaptičkog završetka. Aplikacijom u mišić djeluje mjesecima uzrokujući smanjenje njegove aktivnosti, tj. dovodeći do paralize. Osim toga, on ima i analgetički učinak inhibirajući otpuštanje lokalnih nociceptivnih neuropeptida u osjetilnim živčanim završecima. Iako postoji više njegovih serotipova, najbolje su istraženi tip A (BTXA) i tip B (BTXB). Na tržištu dolazi kao prah pohranjen u bočicama za jednokratnu primjenu. Nakon miješanja s fiziološkom otopinom bez konzervansa spreman je za upotrebu. Osim botulinum toksina i hijaluronska kiselina predstavlja ključnu molekulu u raznim medicinskim i kozmetičkim primjenama. HA prirodni je polimer iz skupine glikozaminaglikana, koja se u ljudskom tijelu sintetizira pomoću hijaluron-sintaza. Za terapijsku primjenu koristi se komercijalna HA proizvedena biotehnologijom u optimalnim uvjetima za kulturu bakterija. Ima ulogu u smanjenju trenja u zglobovima, održavanju procesa cijeljenja rana, reepitelizaciji te u regulaciji upalnog odgovora.

Ključne riječi: botulinum toksin, temporomandibularni poremećaji, neuralgija, sijaloreja, hijaluronska kiselina, bolesti parodonta

APPLICATION OF BOTULINUM TOXIN AND HYALURONIC ACID IN DENTAL MEDICINE

Summary

The beginning of the 21st century labels the beginning of the application of botulinum toxin and hyaluronic acid in dental medicine. The first cognition began in the 19th century. Justinus Kerner was the first who mentioned botulinum toxin, a disease of botulism, in 1817, while the first findings of hyaluronic acid were made by the French scientist Portes in 1880. Botulinum toxin is synthesized by gram-positive anaerobic bacteria *Clostridium botulinum*. It is synthesized as a single polypeptide chain that is applied in the target tissue by inhibiting the release of acetylcholine from the presynaptic terminus. By application in the muscles it performs a reduction of their activities and in the end paralysis. In addition, it has an analgesic effect by inhibiting the release of local nociceptive neuropeptides in sensory nerve endings.

Although there are several of its serotypes, serotype A (BTXA) and type B (BTXB) are the ones best known. It ships on the market as a powder stored in disposable bottles. After mixing in saline without preservatives, it is ready for use. In addition to botulinum toxin the hyaluronic acid also presents itself as a key molecule in various medical and cosmetic applications. HA is a natural polymer from the group of glycosaminoglycans, which is synthesized in the human body using hyaluronic synthases. For the therapeutic purposes the commercial HA produced by biotechnology in optimal conditions for bacterial culture is used. It plays a big role in reducing friction in the joints, maintaining the wound healing process, reepitalization and regulating inflammatory responses

Keywords:

botulinum toxin, temporomandibular disorders, neuralgia, sialorrhea, hyaluronic acid, periodontal disease

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. BOTULINUM TOKSIN	3
2.1. Povijest	4
2.2. Mehanizam djelovanja	4
2.3. Priprema i vrste preparata.....	6
2.4. Kozmetička primjena	7
2.5. Terapijska primjena.....	8
2.6. Temporomandibularni poremećaji	8
2.6.1. Dislokacija diska	9
2.6.2. Trizmus	10
2.6.3. Artritis	10
2.7. Bruksizam.....	11
2.8. Miofascijalna bol.....	11
2.9. Mastikatorna mialgija.....	12
2.10. Oromandibularna distonija	13
2.11. Trigeminalna neuralgija	13
2.12. Postherpetična neuralgija	14
2.13. Migrena	15
2.14. Sindrom „prvog zalogaja“	17
2.15. Cervikalna distonija.....	18
2.16. <i>Gummy smile</i>	18
2.17. Hemifacijalni spazam	20
2.18. Pareza facijalisa	21
2.19. Sijaloreja.....	22
2.20. Cijeljenje rana i terapija hipertrofičnih ožiljaka	22
2.21. Interakcija s drugim lijekovima, nuspojave i kontraindikacije za primjenu BTX-a.....	23
3. HIJALURONSKA KISELINA	24
3.1. Povijest	25
3.2. Općenito o hijaluronskoj kiselini	25
3.3. Kozmetička primjena	27

3.4. Temporomandibularni poremećaji	28
3.5. Bolesti parodonta.....	29
3.6. Rekonstrukcija defekata interdentalnih papila	30
3.7. Recidivirajući aftozni stomatitis.....	31
4. RASPRAVA.....	32
5. ZAKLJUČAK	35
6. LITERATURA.....	37
7. ŽIVOTOPIS	42

Popis skraćenica

BTX – botulinum toksin

SNARE – engl. *N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor*

BTXA – botulinum toksin tip A

FDI – engl. *US Food and Drug Administration*

kDa – kilodalton

BTXB – botulinum toksin tip B

VAMP – engl. *vesicle-associated membrane protein*

TRPV1 – *Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily V Member 1*

U – jedinica

kg – kilogram

°C – Celzijev stupanj

mL – mililitar

G – gauge

mm – milimetar

LLSAN – lat. *levator labii superioris alaeque nasi*

BEB – benigni esencijalni blefarospazam

HFS – hemifacijalni spazam

HA – hijaluronska kiselina

GRAS – engl. *generally regarded as safe*

HMW – engl. *high molecular weight*

HAS – hijaluron-sintaza

1. UVOD

Iako otkrića botulinum toksina i hijaluronske kiseline datiraju još iz 19. stoljeća, tek u posljednja dva desetljeća eksponencijalno raste zanimanje za njihovo istraživanje i kliničku upotrebu. To se povećanje odnosi i na dentalnu medicinu, gdje se koriste ne samo u kozmetičke nego i u terapijske svrhe akutnih i kroničnih stanja (1, 2).

Od prve terapijske upotrebe botulinum toksina, za strabizam, do danas značajno se proširio spektar njegove terapijske primjene (3). *Food and Drug Administration* 2004. godine odobrio je njegovu primjenu u liječenju raznih zdravstvenih stanja kao što su bore na licu, strabizam, cervikalna distonija, blefarospazam i hiperhidroza. Kasnije se njegova primjena proširila i na područje dentalne medicine kao učinkovita alternativa medicinskoj terapiji za liječenje raznih poremećaja glave i vrata koji imaju neurološku komponentu (4). Botulinum toksin (BTX) produkt je bakterije *Clostridium botulinum*. Ulaskom u živčane završetke cijepa i inaktivira SNARE-proteine, koji su neophodni za oslobađanje neurotransmitera. Sprječavanje oslobađanja acetilkolina na neuromuskularnom spoju izaziva dugotrajnu i potencijalno fatalnu paralizu, što je glavno obilježje botulizma. Međutim, intramuskularna aplikacija određene količine BTXA, ima korisne dugotrajne učinke relaksacije mišića. Dokazano je da funkcije BTXA nisu ograničene samo na opuštanje mišića već on može djelovati i kao analgetičko sredstvo (5).

Osim botulinum toksina svoju popularnost stječe i hijaluronska kiselina. Iako postoji njezino prirodno obilje (životinje i ljudsko tijelo), njezina biorazgradivost i biokompatibilnost omogućuju svestranu egzogenu upotrebu. Danas se hijaluronska kiselina široko koristi u mnogim granama medicine i dentalne medicine za liječenje akutnih i kroničnih upalnih bolesti (6,7). Pokazala je širok spektar farmakoloških aktivnosti, uključujući protuupalno djelovanje, obnavljanje tkiva, imunomodulaciju, antikancerogeni, antidijabetički i antiproliferativni učinak te kozmetička svojstva (6).

Svrha ovog rada je opisat ulogu i terapijsku primjenu botulinum toksina i hijaluronske kiseline u dentalnoj medicini kod akutnih i kroničnih patoloških stanja.

2. BOTULINUM TOKSIN

2.1. Povijest

Otkriće botulinum toksina u 19. stoljeću predstavlja veliko medicinsko dostignuće. Justinus Kerner 1817. godine prvi je otkrio bolest botulizam, čiji je uzročnik botulinum toksin te upozorio na njezino nastajanje kao posljedice neadekvatno konzervirane hrane (1). Botulinum neurotoksin polipeptidni je protoksin (kombinacija neurotoksičnih polipeptida i netoksičnih proteinskih komponenti) koji nastaje kao produkt gram pozitivne anaerobne bakterije *Clostridium botulinum* i srodnih vrsta (1). Bakterija je široko rasprostranjena kao saprofit u tlu (8). Botulizam je rijetka bolest koja se klinički očituje od simptoma trovanja hranom, infekcije rane do infantilnog botulizma. Izraz potječe od latinske riječi *botulus* jer su loše konzervirane kobasice bile povezane s trovanjem hranom (8, 9). Tijekom drugog svjetskog rata američki znanstvenici uspjeli su pročistiti, pripremiti i izolirati neurotoksin za vojne potrebe kao biološko oružje, čime naglo počinje rast interesa za botulinum toksin tijekom 20. stoljeća. Godine 1973. Scott i suradnici objavljuju rezultate o mogućnosti sigurne i kontrolirane paralize ekstraokularnih mišića injekcijom botulinum toksina tijekom početnih eksperimenata na životinjama. Četiri godine kasnije, 1977. godine, toksin je prvi puta primijenjen na čovjeku, čime je potvrđena njegova terapijska uloga kod strabizma. Na temelju povoljnog ishoda tog istraživanja FDI (*US Food and Drug Administration*) 1989. godine odobrio je korištenje botulinum toksina u medicinske svrhe. Iste je godine uočen i kozmetički učinak neurotoksina na bore, ali njegova primjena u suvremenoj estetici počinje tek 2002. godine. Posebno zanimanje za njegovo kliničko značenje započinje u posljednja dva desetljeća. U dentalnoj medicini, osim za kozmetičke svrhe, veliki značaj ima i njegov pozitivan terapijski učinak u kroničnim stanjima (1).

2.2. Mehanizam djelovanja

Neurotoksin se sintetizira kao jednostruki polipeptidni lanac molekularne težine 150 kilodaltona te relativno niske potentnosti do trenutka cijepanja. Cijepanje se odvija pomoću tripsina ili bakterijskih enzima na dva zasebna lanca, teži (100 kDa) i lakši (50 kDa) međusobno povezanim disulfidnom vezom. Teži lanac omogućuje vezanje na ciljanu strukturu, dok laki lanac kao toksificirajući lanac cijepa SNARE-kompleks i sadrži dio za vezanje cinkovih iona koji je enzimski aktivan. Botulinum toksin imunološki se klasificira u nekoliko specifičnih serotipova: A, B, C1, C2, D, E, F i G. Najbolje su istraženi serotip A (BTXA) i tip B (BTXB) botulinum

toksina. Njihova konačna molekularna težina varira od 700 kDa za neurotoksin tipa B do 900 kDa za neurotoksin tipa A, ovisno o težini dodanih površinskih proteina. Botulinum neurotoksin djeluje mjesecima, što ga čini jedinstvenim farmakoterapijskim sredstvom. Toksin inhibira oslobađanje acetilkolina iz presinaptičkog završetka interferirajući s funkcijom neuromuskularnog spoja. Aplikacijom u ciljano tkivo (npr. mišić, koža) teži se lanac unutar molekule veže na glikoproteine presinaptičkih receptora specifičnih za kolinergične završetke. Nakon vezanja dolazi do pinocitoze cijele molekule toksina i cijepanja lanca unutar citoplazme. Laki lanac se veže na topljive SNARE (*N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor*) receptore koji su važni za egzocitozu, tj. transport acetilkolina iz citoplazme u sinaptičku pukotinu. SNARE se sastoji od proteina povezanog s vezikulama (VAMP ili v-SNARE, tj. sinaptobrevin) i dva ciljana proteina (t-SNARE): SNAP-25 (protein povezan s plazmamembranskim sinaptosomima; *synaptosomal nerve-associated protein 25*) i sintapsin. Različiti botulinum neurotoksini cijepaju različite proteine unutar SNARE-a. BTXA i E cijepaju SNAP-25 na različitim dijelovima, BTXB, D i F cijepaju VAMP, tj. sinaptobrevin, a BTXC cijepa SNAP-25 i sintapsin. Cijepanjem proteina dolazi do inhibicije pinocitoze acetilkolinskih molekula, fuzije vezikula, oslobađanja acetilkolina iz vezikula te njegovog prijenosa i oslobađanja u sinaptičku pukotinu (1). U novije vrijeme otkriveno je da analgetički učinak počinje nakon ulaska u osjetilne živčane završetke, gdje se to sredstvo aksonalno prenosi u središnji živčani sustav, što sugerira da bi barem dio njihova analgetičkog učinka mogao biti središnjeg porijekla (5). Osim što blokira otpuštanje neurotransmitora acetilkolina, botulinum toksin, posebno BTXA, inhibira otpuštanje lokalnih nociceptivnih neuropeptida kao što su tvar P, peptidi povezani s kalcitoninskim genom, glutamat, kao i ekspresiju TRPV1 (4). Time se naglašava njegova uloga u inhibiciji periferne senzibilizacije C i A-delta nociceptivnih vlakana. Konačni rezultat je periferni i centralni analgetički učinak neurotoksina izravnim i neizravnim djelovanjem na periferne nociceptivne neurone (1). Toksin je visokospecifičan za terminalne živčane završetke motornih živaca. Njegovom aplikacijom u mišić dolazi do djelomične denervacije mišića, tj. do redukcije njegove aktivnosti i lokalne paralize unutar 6 sati s kliničkim učinkom unutar 24 – 72 sata te maksimalnim učinkom 1 do 2 tjedna po primjeni (3, 4). U fazi oporavka biološki procesi nastoje nadvladati blokadu neuromuskularnog spoja toksinom te sam neurotoksin nije letalan za motoneurone. Do potpunog oporavka primarnih terminalnih završetaka i ponovnog preuzimanja funkcije neuromuskularnog spoja dolazi nakon devedeset

dana, ali u određenim slučajevima učinak slabljenja traje od 6 tjedana do 6 mjeseci. Ponovnom aplikacijom dolazi do produženja procesa blokade (1, 4). Za oporavak su odgovorni čimbenici rasta koji se luče iz akcesornih terminalnih završetaka i stimuliraju stvaranje novih neuromuskularnih spojeva (1).

Kod bolesnika kod kojih se često primjenjuje botulinum toksin može nastati imunološki odgovor, tj. nastanak neutralizirajućih ili blokirajućih antitijela koja poništavaju učinak neurotoksina na tkivo. Posebno je veći rizik kod mlađih osoba kod kojih se primjenjuju visoke doze toksina intramuskularno (1).

2.3. Priprema i vrste preparata

Preparati koje nalazimo na tržištu i koje koristimo su:

BTA: Botox[®] (onabotulinumtoxin-A; Allergan, Irvine, CA) u Americi, Dysport[®] (abobotulinumtoxin-A; Speywood Pharmaceuticals, Maidenhead, UK) u Ujedinjenom Kraljevstvu, Xeomin[®] (incobotulinumtoxin-A; Merz Pharmaceuticals, Germany) u Njemačkoj, Prosigne[®] (Lanzhou Biological Products Institute, China) u Kini.

BTB: Myobloc[®] (rimabotulinumtoxin-B; Elan Pharmaceuticals, San Diego, CA) i Neurobloc[®] (rimabotulinumtoxin-B; Elan Pharmaceuticals, Shannon, County Clare, Ireland) (3,10).

Potentnost se izražava u jedinicama (U), pri čemu jedna jedinica odgovara prosječnoj letalnoj dozi potrebnoj da ubije 50 % (LD50) grupe miševa soja Swiss-Webster teških 18 – 20 grama. Smatra se da bi za primjenu kod čovjeka LD50 trebala biti 40U/kg, tj. 2800 jedinica za odraslog čovjeka težine 70 kilograma (1). Botulinum toksin priprema se laboratorijskom fermentacijom *Clostridium botulinum* koja lizira i oslobađa toksin u kulturu. Toksin se zatim sakuplja, pročišćava, kristalizira s amonijevim sulfatom, razrjeđuje humanim serumskim albuminom, liofilizira, pohranjuje u bočicama i zatvara. Svaka bočica BTXA sadrži 100 jedinica (U) botulinum neurotoksina tipa A. (4) Na tržištu se nalazi kao sasušeni prah pohranjen u bočicama za jednokratnu primjenu koje se čuvaju u hladnjaku na temperaturi od 2 – 4 °C (1). Svoju potentnost zadržava 9 mjeseci na sobnoj temperaturi (25 °C) i 3 godine na hladnom (2 – 4 °C) (4). U dentalnoj medicini preporučena doza za primjenu iznosi od 80 do 100 jedinica (1). Doze BTX korištene za liječenje određenog stanja ovise o proizvođaču jer jedinica jednog proizvoda nije ista kao jedinica drugog proizvoda. Dvije su najčešće dostupne vrste BTA Botox[®] i Dysport[®]. Otprilike 20 – 25 jedinica Botox[®]-a izjednačeno je s 80 jedinica Dysport[®]-a. Dodavanje 4 mL

0,9 %-tne normalne fiziološke otopine bez konzervansa daje injekcije koje se trebaju iskoristiti unutar 4 sata. Preporučuje se da priprema bude nježna jer pjena koja nastaje zbog snažnog tresenja može dovesti do površinske denaturacije toksina. Botulinum toksin raspodjeljen je u male bočice po 100 U (3).

Aplikacija može biti invazivna, korištenjem tuberkulinske štrcaljke od 1 mL i igle od 26 – 30 G, ili neinvazivna, tj. transdermalna, pri čemu je nanotehnologijom omogućen prijenos i penetracija molekule toksina unutar kože. Prednosti takvog tretmana su bezbolnost, sigurnost i netraumatska injekcija koja bi u slučaju neiskusnog liječnika mogla dovesti do potpune paralize tretiranih mišića ili asimetrije lica koja može trajati nekoliko mjeseci (1).

2.4. Kozmetička primjena

Još od davnina estetika je percepcija pojedinca. Standardi ljepote mijenjali su se kroz stoljeća s povećanjem svijesti o estetici. Lice postaje glavni izvor informacija za prepoznavanje pojedinca i za mnoge neverbalne poruke, uključujući emocionalno stanje osobe. Bore se smatraju jednim od čimbenika starenja, stoga se povećava potražnja za kozmetičkim tretmanima, kako bi se one smanjile. Injekcija botulinum toksina za liječenje bora na licu najčešći je kozmetički postupak u Sjedinjenim Američkim Državama. Injekcija botulinum toksina posebno u gornju trećinu lica, nudi vidljive rezultate, ima malo štetnih učinaka i velik broj zadovoljnih bolesnika (12). BTXA je najšire prihvaćen zbog upotrebe za privremeno liječenje hiperfunkcije muskulature lica (3). Koriste se niže doze za gornji dio lica i neke regije donjeg dijela lica (11). U nabore oko usana u orofacijalnoj regiji koji se nazivaju i „borama pušača“ ubrizgava se na vermilion ili iznad vermilion, pri čemu se štede kutovi usta kako bi se izbjegao pad kutova. Kao nuspojava tih injekcija teži je izgovor slova „b“ i „p“ i stoga se te injekcije izbjegavaju kod javnih govornika i pjevača. Doze su niže kako bi se postigli estetski rezultati uz održavanje funkcije. Tipična doza u rasponu je 5 do 6 U međutim, savjetuju se doze od 1 do 2 U po točki ubrizgavanja. Na bore na vratu može se djelovati ubrizgavanjem 2 – 4 U u šest točaka ubrizgavanja ravnomjerno raspoređenih duž linije donje čeljusti. U mišićno područje mentalisa može se ubrizgati 5 – 6 U BTXA kako bi se ispravila jamica tog područja (3).

2.5. Terapijska primjena

Neurotoksini botulina koriste se već godinama za liječenje širokog spektra medicinskih i dentalnih bolesti. Djelovanje BTX-a u trigeminalnoj regiji od primarnog je interesa u dentalnoj medicini (5). U području glave i vrata postoji mogućnost nastanka boli iz različitih struktura te je za kliničara važno odrediti izvor boli kako bi odredio adekvatnu terapiju. U liječenju orofacijalne boli primjenjuje se i botulinum neurotoksin i to za sljedeće indikacije:

- temporomandibularni poremećaji
- hipertrofija maseteričnog i temporalnog mišića
- trizmus
- orofacijalna bolna stanja: neuralgije i migrena
- poremećaji žlijezda slinovnica
- *gummy smile*
- poremećaji ličnog živca
- hemifacijalni spazam
- cijeljenje rana i terapija hipertrofičnih ožiljaka

2.6. Temporomandibularni poremećaji

TMP ili temporomandibularni poremećaji zajednički je naziv za brojne kliničke poremećaje koji uključuje žvačne mišiće, temporomandibularne zglobove i njima pridružene strukture. Prevalencija TMP-a u općoj populaciji iznosi 35 do 50 %. Oni uključuju artrogene i miogene poremećaje, čiji je najčešći simptom bol. Maseterični, temporalni i lateralni pterigoidini mišići uključeni su u miogeni temporomandibularni poremećaj. Intramuskularne injekcije tih površinskih mišića obično se izvode transkutano uz kontrakciju mišića prilikom zagriža. Da bi suzili difuziju izvan ciljanog mišića (injekcije izvan ciljanog područja ili u blizini) i pojačali djelovanje BTXA, opisane su različite tehnike navođenja poput elektromiografije, ultrazvuka, fluoroskopije, personaliziranih 3D vodiča za ubrizgavanje ili MR-om vođena aplikacija (13).

2.6.1. Dislokacija diska

Prednji pomak diska s redukcijom ili bez redukcije funkcijski je poremećaj diska, pri čemu su narušene normalne disk-kondil kretnje uz nastanak zvukova u zglobu (14). Rotacija je jedina fiziološka kretnja koja se može javiti između kondila i diska pa je sama kretnja ograničena. Opseg rotacijske kretnje ograničava morfologija diska, veličina intraartikularnog pritiska, gornji dio lateralnog pterigoidnog mišića, gornja retrodiskalna lamina, duljina kolateralnih ligamenata, straga donja retrodiskalna lamina i sprijeda prednji ligament zglobne kapsule. Kako bi stabilizirao zglob, pri čvrstom zagrizu, gornji dio lateralnog pterigoidnog mišića povlači kondil-disk kompleks prema naprijed. Ako dođe do promjene morfologije diska te se ligamenti izduže, doći će do translacije diska, tj. slobodnog kretanja diska preko zglobne površine kondila. Zato što gornja retrodiskalna lamina nema veliki utjecaj na položaj diska pri zatvorenom zglobnom položaju, tonus gornjeg lateralnog pterigoidnog mišića uzrokuje anteriorni položaj diska iznad kondila. Prilikom otvaranja usta kondil se pomiče prema naprijed te se između kondila i diska javlja translacijska kretnja sve dok kondil ne zauzme svoj normalni položaj na intermedijarnoj zoni diska, takva se kretnja normalno ne odvija u zdravom zglobu (4, 14). Posljedica anteriornog pomaka diska s redukcijom su bol i zvukovi u zglobu (1). Tretman prvo uključuje injekciju lokalnog anestetika te nakon njegovog pozitivnog učinka na bolove i klik, kreće se s aplikacijom BTXA. Potrebna doza iznosi 25 – 50 U. Korištenje 50 U ili više dovodi do većeg postotka nuspojava poput disfagije. Aplikacija je obostrana u lateralne pterigoidne mišiće vođena elektromiogramom. Pri aplikaciji pacijent sjedi u uspravnom položaju na stomatološkoj stolici sa široko otvorenim ustima (16). Pristup može biti ekstraoralni ili intraoralni. Intraoralno se lateralnom pterigoidnom mišiću pristupa lateralno od tubera maksile, pri čemu je igla neposredno iznad maksilarnih kutnjaka i paralelno s okluzijskom ravninom (15). Nakon aspiracije započinje aplikacija sa smjerom igle prema lateralno i natrag. Prilikom ekstraoralnog pristupa važno je odrediti glavu kondila pri kretnjama mandibule u maksimalnom doseg. Iгла se postavi pod kutem od 45 stupnjeva kako bi dosegla glavu kondila te se zatim povuče prema natrag i usmjeri prema naprijed i dublje (1). Ekstraoralni pristup izbjegava se zbog povećanog rizika intravaskularnog ubrizgavanja BTXA, što dovodi do simptoma sličnih botulizmu (16).

2.6.2. Trismus

Trismus je potpuno ili djelomično ograničeno otvaranje usta uzrokovano spazmom žvačne muskulature. Uzrok može biti lokalni, npr. upala ili opći npr. tetanus, neurogeni ili psihogeni (17). U tom slučaju BTXA djeluje na terminalne sinapse kolinergičnog donjeg motornog neurona i uzrokuje paralizu mišića, uzročnika limitiranog otvaranja usta. Prilikom aplikacije koriste se doze od 25 jedinica po maseteričnom mišiću i doze od 10 jedinica po temporalnom mišiću. Preporučena aplikacija u maseterični mišić je u više različitih mjesta u području mišića. Ta se mjesta određuju elektromiografijom kao područja najveće aktivnosti ili bolnosti. One su raspoređene ispod linije koja spaja tragus uške i kut nosnog krila. Kao komplikacija može se javiti slučajna administracija BTXA u područje inervacije velikog zigomatičnog živca te posljedične asimetrije prilikom smijanja i pada kuta usana. Aplikacija u temporalni mišić BTXA može biti površinska, u najtanji, gornji dio mišića ili duboka. Najadekvatnija tehnika duboke aplikacije je pod kontrolom elektromiografije u najdeblji dio mišića iznad njegova hvatišta na koronoidni nastavak. Aplikacija toksina u medijalni pterigoidni mišić upitna je zato što sama aplikacija u maseterični i temporalni mišić dovodi do zadovoljavajućih rezultata. Ekstraoralna tehnika submandibularna je, međutim ne predstavlja idealnu angulaciju i pristup. Intraoralna je tehnika vođena elektromiografskim navođenjem, uz prethodnu palpaciju mišića. Ubodno se mjesto nalazi medijalno od unutarnje površine ramusa donje čeljusti i lateralno od pterigomandibularne raphe (1).

2.6.3. Artritis

Artritis je upala zglobnih površina temporomandibularnog zgloba koji odlikuje bol zbog otpuštanja neuropeptida i disfunkcija. Dolazi do destruktivnih promjena koštanih zglobnih površina kondila i zglobne jamice (14). Napredovanjem bolesti dolazi do kontraktura i mišićne atrofije. U terapiji se primjenjuje BTX koji inhibira otpuštanje neuropeptida te, djelujući na funkciju nociceptora, reducira bol i neurogenu upalu (1). Anatomske referentne točke (stražnji rub ramusa mandibule do kondila i donji rub zigomatičnog luka) palpira se tijekom maksimalnog otvaranja usta. Igla se potom aplicira u stražnju gornju granicu kondila u zajednički zglobni prostor. Aplicira se 30 jedinica u svaki zglob. Ponovnim mjerenjem otvaranja usta uočava se povećanje amplitude otvaranja (18).

2.7. Bruksizam

Bruksizam je nesvjesna i ponavljajuća kontrakcija maseteričnog i temporalnog mišića koja dovodi do nepovoljnog kontakta zubi gornje i donje čeljusti (1). Bruksizam se može javiti u vrijeme budnosti kao budni bruksizam ili za vrijeme spavanja kao bruksizam spavanja. Procjenjuje se da 24 % odrasle populacije boluje od dnevnog bruksizma, dok 16 % boluje od noćnog bruksizma. *World Health Organization* smatra da u etiologiji bruksizma postoji velika psihogena komponenta (19). U terapiji se koristi 60 jedinica BTXA u svaki maseterični mišić. Doza može varirati od 25 do 100 U (1). Psihološki čimbenici igraju vrlo važnu ulogu u etiologiji i liječenju bruksizma. Taj se aspekt očituje u rezultatima studije Zhang i sur., jer su vrijednosti najveće sile žvakanja smanjene, iako u različitim stupnjevima kako u eksperimentalnoj skupini BTXA tako i u placebo i kontrolnim skupinama. Ta promjena sile ugriza u placebo i kontrolnim skupinama ukazuje da psihološka intervencija može igrati važnu ulogu u liječenju bruksizma (20). Kao posljedica parafunkcije, najčešće bruksizma, dolazi do hipertrofije maseteričnog i temporalnog mišića. Povezano s hipertrofijom javlja se kronična bol, te se zato koristi BTX kao terapija. Perkutano se aplicira 12 jedinica u najdeblje područje mišića, prethodno identificiranog palpacijom tijekom bruksizma. Hipertrofija žvačnih mišića može biti i asimptomatska, tada se u svrhu postizanja hipotrofije ili atrofije mišića koristi 100 U BTX. Takav tretman ponavlja se svakih 6 mjeseci (1).

2.8. Miofascijalna bol

Miofascijalna bol (*trigger point* mialgija) složeni je bolni sindrom nejasne etiologije. Prvi put opisali su ga 1952. Travell i Rinzler (1). To je stanje lokalne miogene boli, koje se odlikuje lokalnim područjima tvrdih, pojačano osjetljivih snopova mišićnog tkiva, tj. *trigger*-točaka koje pri palpaciji izazivaju bol. Na mjestima *trigger*-točaka može postojati lokalno povećanje temperature zbog povećanih metaboličkih zahtjeva, smanjenog protoka krvi ili oboje. *Trigger*-točke mogu uzrokovati središnje ekscitacijske učinke. Oni se mogu pojaviti kao odražena bol, sekundarna hiperalgezija, zaštitna kokontrakcija ili autonomni odgovor. Ako *trigger*-točka središnje ekscitira skupinu konvergirajućih aferentnih interneurona, može nastati odražena bol ovisno o lokaciji određene točke. Pacijent to često navodi kao glavobolju (14). *Trigger*-točke mogu biti u aktivnom i latentnom stanju. Kada je *trigger*-točka u latentnom stanju, nije bolna na

palpaciju i ne postoji odražena bol koja bi otežala dijagnostiku poremećaja (1). Uzrok miofascijalne boli je složen i to miogeno bolno stanje još uvijek ne razumijemo u potpunosti. Travell i Simons opisali su određene lokalne i sustavne čimbenike koje su smatrali povezanim s tim stanjem npr. mikrotrauma uslijed malokluzije ili bruksizma, hipovitaminoze, loše psihičko stanje, umor, virusne infekcije, emocionalni stres i duboki bolni podražaj (1, 14).

U površinskom dijelu maseteričnog mišića *trigger*-točke mogu izazvati bol u području stražnjih zuba gornje i donje čeljusti i područja lica. Osim toga, pacijenti se često žale na zubobolju. Bol se iz dubokog dijela maseteričnog mišića odašilje u područje temporomandibularnog zgloba i uha, što se klinički očituje kao ograničeno otvaranje usta i devijacija mandibule na zahvaćenu stranu. Temporalni mišić dijelimo na prednji, srednji i stražnji dio. Bol se iz prednjeg dijela prenosi u područje gornjih sjekutića, dok se iz srednjeg i stražnjeg dijela prenosi u područje pretkutnjaka i kutnjaka gornje čeljusti i gornje polovice lica. *Trigger*-točke u medijalnom pterigoidnom mišiću odražavaju bol u područje stražnjeg dijela usta, ždrijela, oko temporomandibularnog zgloba i infraaurikularnog područja. Otvaranje usta ograničeno je s devijacijom od medijalne linije na zdravu stranu. Otvaranje i čvrsti zagriz pojačavaju bol. Lateralni pterigoidni mišić sastoji se od gornjeg i donjeg dijela. Gornji mišić reflektira svoju bol u zigomatično područje te ju pacijent opisuje kao difuznu bol u području obraza. Bol se pojačava pri zatvaranju u habitualnoj okluziji (istezanje mišića) i pri ugrizu na separator (kontrakcija mišića). *Trigger*-točke iz donjeg lateralnog pterigoidnog mišića reflektiraju se u područje temporomandibularnog zgloba. Bol se pojačava pri zagrizu u habitualnoj okluziji (istezanje mišića) i pri protruziji mandibule uz otpor (kontrakcija mišića). Miofascijalna bol povezuje se s difuznom boli te napetošću i zamorom mišića. Kao učinkovita terapija u redukciji mišićne hiperaktivnosti i stresa na temporomandibularni zglob, primjenjuje se BTXA s ciljem blokiranja otpuštanja acetilkolina na neuromuskularnom spoju. Primijenjena doza iznosi od 25 do 50 jedinica (1).

2.9. Mastikatorna mialgija

Mastikatorna mialgija kronična je iritacija nociceptora u području tetiva i fascija maseteričnog, temporalnog i medijalnog pterigoidnog mišića. Primjenom BTX-a dolazi do atrofije zahvaćenih mišića, opuštanje njihove tenzije i dekompresije aferentnih neurona uslijed smanjivanja neurogene upale posredovane tvari P (1).

2.10. Oromandibularna distonija

Oromandibularna distonija nevoljni je i ponavljajući klonički ili tonički spazam žvačne, lingvalne i faringealne muskulature te posljedične distorzije u položaju i funkciji stomatognatog sustava i distonije vratnih mišića. Odlikuje ju je disfagija, disfonija, dizartrija, blefarospazam, bruksizam i subluksacija temporomandibularnog zgloba. Taj je poremećaj opisao 1910. godine francuski neurolog Henry Meige. Najčešće se javlja između 30-e i 70-e godine i to dvostruko češće u žena. Etiologija je i dalje nepoznata i u 63 % slučajeva idiopatska. Ostali su potencijalni etiološki čimbenici farmakološke supstancije, periferno uzrokovana oromandibularna distonija, postanoksija, neurodegenerativni poremećaji te distonije nastale nakon traume glave. Moguća je i genetska predispozicija. Patogeneza se temelji na poremećaju neurotransmitera i posljedičnih abnormalnih mišićnih kontrakcija. U početnoj fazi distoničke su epizode potaknute običnim radnjama (govor, gutanje), dok se u uznapređevaloj fazi javljaju i prilikom mirovanja. Pacijenti navode poteškoće prilikom govora, žvakanja i gutanja koje nastaju kao posljedica nevoljnih pokreta mandibule. Često se pogrešno dijagnosticira i zamjenjuje s temporomandibularnim poremećajima poput bruksizma ili spontane dislokacije kondila, hemifacijalnog spazma i psiholoških manifestacija. U terapiji se najčešće primjenjuju kolinergici, benzodijazepini, antiparkinsonici, antikonvulzivi, gabapentin i botulinum toksin. 7's

2.11. Trigeminalna neuralgija

Trigeminalnu neuralgiju IASP (*The International Association for the Study of Pain*) definira kao iznenadnu, jednostranu, tešku, kratku, ubodnu, ponavljajuću epizodu boli (4). Bol se može pojaviti u jednoj ili se proširiti na više grana trigeminalnog živca. Obično se javlja nakon četrdesete godine života u žena. Najčešće se javlja jednostrano iako se može javiti i obostrano, ali ne i istovremeno u tom slučaju. Varijabilnog je intenziteta, od blagih bolova do prave trigeminalne neuralgije. Već se u početku može pojaviti kao jaka probadajuća bol, pri čemu pacijent čini bolne grimase provocirane na bolnim točkama (*tick doloures*). Bol se može javiti spontano ili može biti aktivirana provocirajućim čimbenicima kao što su vjetar ili klimatizacija prostora. Epizoda se najčešće javlja iznenada i traje nekoliko sekunda ili minuta, nakon čega se spontano povlači. Mogu se pojavljivati u nepravilnim razmacima te se ponavljati satima, danima ili kontinuirano ako se ne primjeni odgovarajuća terapija. U većine pacijenata dolazi do spontane

remisije boli (1). Međunarodno društvo za glavobolju (*The International Headache Society*) dijeli trigeminalnu neuralgiju na „klasičnu“, koja obuhvaća sve definirane slučajeve trigeminalne neuralgije nepoznate etiologije, osim vaskularne kompresije trigeminalnog živca i „sekundarnu“, koju uzrokuje kompresija trigeminalnog živca zbog prisutnosti strukturnih abnormalnosti ili tumora (7).

Postoji nekoliko načina terapije trigeminalne neuralgije, ponajprije lijekovima (1). Iako je okskarbazepin jednako učinkovit s manje nuspojave, lijek izbora je antiepileptik karbamazepin. Otkriveno je da ti načini liječenja poboljšavaju kvalitetu života bolesnika s neuralgijom, ali imaju nuspojave na središnji živčani sustav i mnogi pacijenti postanu rezistentni na te lijekove tijekom određenog vremena (4). Nažalost, oko 25 % do 50 % farmakološki liječenih pacijenata postaje refraktorno, zahtijevajući kirurški zahvat kao što su vaskularna dekompresija, djelomična senzorna rizotomija i radiokirurgija gama nožem (5). Tako da je kirurško liječenje, iako ublažava simptome boli, povezano sa senzoričkim nuspojavama. Pretpostavlja se da je botulinum toksin sposoban ublažiti bol inhibirajući oslobađanje glutamata, peptida povezanog s kalcitoninskim genom i tvari P, i tako rezultira inhibicijom periferne senzibilizacije nociceptivnih vlakana te je smanjena središnja osjetljivost. Piovesan i sur. izvijestili su o uspjehu u postizanju gotovo potpunog ublažavanja boli kod svih svojih 13 pacijenata u roku od 10 dana nakon subdermalnih injekcija botulinum toksina tipa A, sa srednjom dozom 3,22 jedinica/cm² izravno u pogođena područja lica (4). Preporučena doza botulinum toksina iznosi od 20 do 50 U, injicirana u područje *trigger*-zona ili maseteričnog mišića. Prije aplikacije 100 se jedinica BTX-a se razrijedi s 0,9 %-tnom otopinom NaCl-a. Maksimalna doza aplicira se subkutano i intradermalno tako da se 2,5 – 5 U po točki aplicira u područje trigeminalne boli u razmacima 10 do 15 mm, dok se veće doze, 5 U, apliciraju u blizinu izlazišta terminalnih senzoričkih završetaka grana petog moždanog živca. Pravilo subkutane i/ili intradermalne aplikacije ne poštuje se jedino u području supraorbitalne regije, gdje se BTX aplicira u mišić *corrugator supercilli*. Razlog takve aplikacije je to da supraorbitalni i trohlearni mišić mogu biti kompromitirani spomenutim mišićem (1).

2.12. Postherpetična neuralgija

Postherpetična neuralgija dugotrajna je probadajuća bol jakog intenziteta zaostala nakon povlačenja simptoma (kožnih promjena) herpesa zostera. Naime, većina ljudi tijekom života

(najčešće u djetinjstvu) preboli vodene kozice uzrokovane virusom *varicella zoster*. Virus i nakon povlačenja kožnih simptoma zaostaje u tijelu te se u trenutku pada imuniteta aktivira uzrokujući herpes zoster. Herpes zoster zahvaća živce koji svojim vlaknima opskrbljuju određena strogo definirana područja kože. Pojavljuje se unilateralno te pokazuje simptome kao što su bol, svrbež, osip i mjehuriće slični onima koje uočavamo kod vodenih kozica. Ako je bol dugotrajna i ne povlači se na analgetike, liječnik može preporučiti antikonvulzive. Kao alternativna metoda počinje se primjenjivati botulinum toksin. Aplicira se doza od 15 U te izravno utječe na senzoričke neurone i indirektno na središnji živčani sustav. Ostale neuropatije kao što su dijabetička neuropatija, neuropatija uzrokovana kemoterapijom i traumatska neuropatija također se mogu liječiti aplikacijom botulinum toksina (1,5).

2.13. Migrena

Glavobolja je svaka bol u području glave bez obzira na uzrok, lokalizaciju i ostale karakteristike. Međunarodna udruga za glavobolje (*International Headache Society – IHS*) objavila je 1988. godine službeno podjelu glavobolja na primarne i sekundarne te definirala smjernice za njihovu dijagnostiku i liječenje. S obzirom na nova saznanja te su smjernice 2004. i 2013. godine ažurirane. Ako se radi o izoliranom poremećaju, takvu glavobolju nazivamo primarnom, dok se one glavobolje koje nastaju kao posljedica nekog drugog poremećaja u organizmu nazivaju sekundarnima. Primarne glavobolje dijelimo na migrene (s aurem, bez aure, periodički sindromi u djetinjstvu, retinalna migrena, vjerojatna migrena, komplikacije migrene, npr. kronična migrena), tenzijske glavobolje (rijetke epizodične glavobolje, česte epizodične glavobolje, kronična tenzijska glavobolja, vjerojatna tenzijska glavobolja), *cluster*-glavobolje i druge trigeminalne autonomne neuralgije (*cluster*-glavobolje, paroksizmalna hemikranija, kratkotrajna jednostrana neuralgiformna glavobolja uz napadaje, vjerojatna trigeminalna autonomna glavobolja) i ostale primarne glavobolje (1).

Kronična glavobolja česta je u populaciji i značajno opterećuje oboljele. Nedavna randomizirana, placebo kontrolirana ispitivanja pokazala su značajnu korist u liječenju kronične migrene botulinum toksinom. To je dovelo do novog razdoblja liječenja migrene pomoću modulacije senzornih puteva. Tenzijska glavobolja javlja se kod 38 % odraslih osoba. Teoretiziralo se da nastaje zbog preosjetljivosti mišićnih afektora od strane lokalnih medijatora, što dovodi do središnje desenzibilizacije, a ako se ne liječi, dolazi kao kronični tip tenzijske glavobolje.

Botulinum toksin, koji uključuje onabotulinumtoksin A i abobotulinumtoksin A, cilja miofascijalni senzorni sustav, koji bi trebao pomoći da se prekine put boli i spriječiti napredovanje do kroničnog tipa tenzijske glavobolje (21).

Kronična migrena općenito se definira kao ≥ 15 dana glavobolje mjesečno, pri čemu ≥ 8 dana ispunjava kriterije migrene s globalnom prevalencijom od oko 1,4 % do 2,2 %. Studije su otkrile da je kronična migrena povezana s povećanim invaliditetom, psihijatrijskim komorbiditetima i većim financijskim i profesionalnim teretom u usporedbi s epizodnim migrenama (definiranim kao < 15 dana glavobolje mjesečno). Osobe s kroničnom migrenom suočavaju se s preprekama u pravilnom liječenju svoje bolesti. Trenutno se osobe s liječe antikonvulzivima (valproat, topiramat), antidepresivima (amitriptilin), beta blokatorima (propranolol, metoprolol, timolol, bisoprolol) i blokatorima receptora angiotenzina II (kandesartan) ili onabotulinumtoksinom A. Unatoč težini bolesti, samo manjina osoba s kroničnom migrenom (40 %) uzima preventivne lijekove, a < 25 % konzumira oralne preventivne lijekove godinu dana nakon započinjanja liječenja, prvenstveno zbog nuspojava (22).

Migrena je primarna glavobolja koja se odlikuje ponavljajućim pulsirajućim napadima praćenim mučninom, povraćanjem i drugim neurološkim simptomima. Napad glavobolje može trajati od 4 do 72 sata te se češće javlja kod žena nego kod muškaraca. Jedno je od najčešćih bolnih stanja s utjecajem na kvalitetu života. Precipitirajući čimbenici koji dovode do migrene su stres, menstruacija, hormonalna kontracepcija, nedostatak sna, promjena vremena, ritma spavanja i budnosti, konzumacija alkohola, kofeina, pušenje, gladovanje itd. Patogenezu migrene opisuje nekoliko hipoteza. Prema vaskularnoj hipotezi vazokonstrikcija intrakranijalnih krvnih žila uzrokuje auru i prateće neurološke simptome, dok vazodilatacija ekstrakranijalnih krvnih žila uzrokuje migrensku glavobolju. Neuralna hipoteza kaže da migrena nastaje kao posljedica depresije kortikalne aktivnosti koja se širi korteksom brzinom od nekoliko milimetara u minuti, ispred koje se širi val povećane kortikalne aktivnosti. Prema hipotezi trigeminovaskularnog sustava, aktivacija *nucleusa caudalis* trigeminalnog živca u produljenoj moždini dovodi do otpuštanja vazoaktivnih peptida na vaskularnim završecima petog moždanog živca. Oni uzrokuju aseptičku perivaskularnu upalu, što dovodi do aktivacije nociceptora u stijenkama krvnih žila i do nastanka boli. Nastaje signal boli te se modulacija boli smanjuje. Kod *cluster*-glavobolje, signal boli prosljeđuje oftalmička grana petog moždanog živca, što uzrokuje oslobađanje tvari P i

peptida povezanog s calcitoninским genom, vazodilataciju duralnih krvnih žila i neurogeni upalu.

Razlikuju se tri mehanizma djelovanja u liječenju migrena i glavobolja botulinum toksinom:

1. smanjena kontraktibilnost mišića inhibicijom otpuštanja acetilkolina u presinaptičkim pukotinama
2. inhibira aktivnost parasimpatikusa, što dovodi do analgezije
3. u središnjem živčanom sustavu inhibira otpuštanje tvari P iz trigeminalnih živčanih završetaka i aktivira ekspresiju tvari P u *raphe nuclei*, čime se modulira bol.

BTX se aplicira u područje napetog mišića, tj. u područje boli. Iako često aplikacija u području glabele dovodi do potpunog prestanka boli, moguća je i aplikacija u subokcipitalnoj regiji. Preporučena doza iznosi od 10 do 150 jedinica. U slučaju *cluster*-glavobolje moguća je i primjena botulinum toksina tipa B (1200 U) (1).

2.14. Sindrom „prvog zalogaja“

Sindrom „prvog zalogaja“ ili *First-Bite Syndrome* rijedak je poremećaj koji odlikuje bol u području parotidne žlijezde tijekom prvog zalogaja. Svakim sljedećim zalogajem i žvakanjem, bol se postupno smanjuje, a ponovno se vraća istim intenzitetom kod prvog zalogaja svakog sljedećeg obroka (1). Izraz „sindrom prvog zalogaja“ prvi put je korišten u literaturi sjevernoameričkog gastroenterologa dr. W.S. Haubricha 1986. u članku objavljenom u medicinskom časopisu bolnice Henry Ford . Iako je etiologija nepoznata, pretpostavlja se da nastaje zbog gubitka simpatičke inervacije u području parotidne žlijezde. Posljedično tome dolazi do hiperosjetljivosti mioepitelijalnih stanica na parasimpatičke neurotransmitere i njihove maksimalne kontrakcije prilikom prvog zalogaja (1). Uzroci ovog sindroma mogu biti izravna ozljeda cervikalnog simpatičkog debla (operacija kranijalnog živca na bazi lubanje i parafaringealnom prostoru, duboka disekcija cervikalnog limfnog čvora, tumori) ili postganglionskih simpatičkih eferenata cervikalnog simpatičkog debla (što odgovara operaciji perikarotidnog simpatičkog plexusa (stiloidni), karotidnoj kirurgiji, parotidnoj kirurgiji s ligacijom vanjske karotidne arterije, tumori).

Prije razmatranju vrste „radikalnog“ tretmana, koji može biti rizičan s funkcijskim posljedicama, mora se imati na umu da se u velikom broju slučajeva sindroma prvog ugriza i težina simptoma smanjuje s vremenom i bol ponekad potpuno nestaje nakon nekoliko mjeseci do jedne godine. Intraparotidna injekcija botulinum toksina učinkovita je u smislu analgezije i poboljšanja kvalitete života (23). U liječenju tog sindroma botulinum toksin prvi puta upotrebljen je 2008. godine (1). Injekcija botulinum toksina izvodi se preko bolnih zona u parotidnoj žlijezdi (23). Pacijent se nalazi u ležećem položaju te se preporučuje aplikacija od 40 do 60 U BTXA uz ultrazvučno navođenje (1).

2.15. Cervikalna distonija

Cervikalna distonija poremećaj je odlikovan ponavljajućim kontrakcijama vratnih mišića i posljedičnim nevoljnim pokretima glave i vrata, cervikalnom boli i abnormalnim položajem vrata. Jednostrukom aplikacijom botulinum toksina tipa A uklanjaju se bolni podražaji, abnormalni pokreti i kontrakcija mišića. Učestalom primjenom dolazi do prevencije degenerativnih promjena cervikalne kralježnice i posljedične radikulopatije (1).

2.16. Gummy smile

Osmijeh osobe ovisi o trima glavnim komponentama: zubima, gingivi i usnama. Mnogi su proučavali te komponente atraktivnog osmijeha. Većina je studija zaključila da je optimalna količina maksilarnog gingivalnog tkiva prikazana tijekom osmijeha 3 mm. *Gummy smile* ili prekomjeran prikaz gingive u maksilarnom luku kod osmijeha poznat je kao razlika između donjeg ruba gornje usne i gornje granice sjekutića. Botulinum toksin koristi se kao privremeni tretman *gummy smilea* kada je uzrokovan mišićnom hiperfunkcijom (24).

Gummy smile ili povećana vidljivost gingive može imati više uzroka. Ezquerria i sur. opisali su tri etiološka čimbenika:

1. kost, u slučaju previsoke vertikalne dimenzije maksile
2. gingiva, u kasnoj pasivnoj erupciji zuba
3. mišić, u hiperfunkciji koji dižu gornju usnu.

LeFort I osteotomija glavna je opcija liječenja vertikalnog viška maksilarne kosti. Prekomjerni prikaz gingive, uzrokovan kasnijom pasivnom erupcijom, liječi se operacijama produljenja krune zuba poput gingivektomije s resekcijom kostiju ili bez resekcije kostiju. Hiperaktivnost mišića gornje usne liječena je resekcijom sluznice, djelomičnom mioektomijom mišića levatora i subperiostalnom disekcijom mišića koji podižu usne. Te su operacije sve invazivne i nepovratne, a ubrizgavanje botulinum toksina neinvazivna je, sigurna i privremena alternativa liječenju *gummy* osmijeha. Prema svim navedenim indikacijama, injekcija botulinum toksina mogla bi se provesti kod pacijenata koji se odluče za neinvazivno liječenje, zahtijevaju privremeno liječenje dok čekaju operaciju, imaju hiperaktivnost mišića gornje usne ili trebaju komplementarno liječenje nakon operativnih zahvata.

Mazzuco i Hexsel predstavili su *gummy-smile* klasifikaciju na temelju prekomjerne vidljivosti desni i identifikacija mišića koji su u to uključeni. Primijetili su četiri vrste *gummy smilea*:

1. prednji *gummy smile* (izloženo je više od 3 mm gingive između gornjeg ruba područja između očnjaka i donjeg ruba gornje usne, zbog aktivnosti mišića *levator labii superioris alaeque nasi* (LLSAN))
2. stražnji *gummy smile* (izloženo je više od 3 mm gingive između gornjeg ruba stražnjih zubi i donjeg ruba gornje usne zbog aktivnosti zigomatičnih mišića)
3. mješoviti *gummy smile* (s pretjeranim izloženost gingive u prednjoj i stražnjoj regiji, uključujući kombinirane aktivnosti LLSAN-a i zigomatičnih mišića)
4. asimetrični *gummy smile* (pretjeranim izlaganjem gingive jedne strane uzrokovan asimetričnom kontrakcijom LLSAN-a ili zigomatičnih mišića) (25).

Yonsei točka (Hwang i suradnici opisali su točku koja se nalazi 1 cm bočno od nosnog krila i 3 cm iznad linije usana) koja cilja mišiće LLSAN, *levator labii superioris* i *zygomaticus minor*. Sigurna je i ponovljiva točka ubrizgavanja koja se koristi u liječenju svih vrsta *gummy*-osmijeha. Ukupna doza BTXA-a ubrizgana po strani trebala bi biti 5 U, u početku s ponovnom injekcijom, kasnije, ako je potrebno. Točke ubrizgavanje koje su Mazzuco and Hexsel opisali nalaze se kod prednjeg *gummy smilea* u nazolabijalnoj brazdi, 1 cm lateralno i ispod nosnog krila (2,5 – 5 U za LLSAN). Kod stražnjeg *gummy smilea* u dvije točke, jedna je u nazolabijalnu brazdu na mjestu najveće kontrakcije tijekom osmijeha, dok je druga 2 cm lateralno od prve točke (5 U za

zygomaticus minor). Kod mješovitog *gummy smilea* ubrizgava se u prednju i stražnju točku, dok kod asimetričnog na mjestu veće izloženosti desni u stražnju točku (5 U) i najnižu točku na kontralateralnoj strani (2,5 U za *zygomaticus minor*). Injekcija botulinum toksina-A neinvazivna je i privremena metoda liječenja *gummy smilea* (25).

2.17. Hemifacijalni spazam

Benigni esencijalni blefarospazam (BEB) i hemifacijalni spazam (HFS) nehotični su poremećaji pokreta lica koji utječu na mišiće lica u periokularnoj regiji. BEB je obično bilateralan i uključuje mišiće očnih kapaka i gornjeg dijela lica koji sudjeluju u treptanju i zatvaranju očnih kapaka.

HFS gotovo je uvijek jednostran i utječe na mimične mišiće lica koje inervira facijalni živac, uključujući mišiće *orbicularis oculi*. Temeljna patofiziologija razlikuje se između dva poremećaja. Prevalencija HFS-a u svijetu nije poznata, ali procjenjuje se da iznosi oko 10 osoba na 100 000 prema istraživanjima u Rochesteru, Minnesoti i Oslu. HFS uključuje grčeve mimičnih mišića lica inerviranih facijalnim živcem jedne strane lica. Tipični HFS počinje kao grčevi *orbicularis oculi* i postupno napreduje ili se širi tijekom vremena uključujući niže mišiće lica, ponekad uključujući i platizmu. Atipični HFS počinje u mišiću *orbicularis oris* i ostalim mišićima oko usta i širi se prema gore kako bi kasnije obuhvatio i *orbicularis oculi*. Epizode grčeva mogu započeti kao niz od nekoliko trzaja koji se povećavaju intenzitetom i učestalošću dok se ne dogodi kontinuirana kontrakcija. Bol nije glavni simptom bolesnika s HFS-om, premda trajna kontrakcija može dovesti do nelagode. Lakrimacija i rinoreja obično nedostaju u HFS-u. Iako je HFS gotovo uvijek jednostran, zabilježeno je nekoliko bilateralnih slučajeva. Slično kao u BEB-u, kronični grčevi HFS-a dovode do psiholoških opterećenja, socijalnih ograničenja i smanjenja kvalitete života. Patofiziologija HFS-a je bolja od one u BEB-u. Campbell i Keedy prvi su primijetili aneurizme bazilarne arterije koje komprimiraju facijalni živac na izlaznoj zoni korijena i uzrokuju HFS kod dvaju pacijenata 1947. godine. Daljnja su ispitivanja pokazala da i drugi entiteti dovode do kompresije živca lica, uključujući akustične švanome, meningiome, tumore parotidne žlijezde i pilocitne astrocitome. Iako vjerojatno postoje i drugi utjecaji koji doprinose HFS-u, čini se da je mehanička kompresija facijalnog živca glavni čimbenik.

Redovite injekcije botulinum toksina u zahvaćene mišiće lica pokazale su se učinkovitima za upravljanje stanjem. Kongsengdao i Kritalukkul otkrili su poboljšanje u kvaliteti života, što je

primarni ishod u njihovoj studiji, među 26 bolesnika s HFS-om u randomiziranom unakrsnom istraživanju. Klinička poboljšanja kod većine bolesnika koji su primali injekcije primijećena su tijekom prvog tjedna primjene, a trajala su oko 12 tjedana. HFS je progresivno stanje u koje se s vremenom uključuje više mišića. Zbog toga različiti mišići mogu biti uključeni, kod istog pacijenta, od posjeta do posjeta. To naglašava ključnu točku u liječenju HFS-a, jednostruki pristup ne djeluje tako dobro kao individualizirani plan procjene i liječenja pri svakom posjetu. Jednom kada kliničar prepozna mišiće koji su uključeni u spazam, u svaki se mišić može ubrizgati izravno botulinum toksin. Budući da toksin djeluje na živčano-mišićnom spoju, treba ga ubrizgati izravno u mišićni trbuh. Dubina ubrizgavanja ovisi o ciljanom mišiću. Pacijentima koji nisu liječeni možda će trebati niže doze, dok neki pacijenti mogu zahtijevati veće doze po mišiću tijekom vremena. Ovisno o tome koji mišići su uključeni, može se odabrati 5 do 10 mjesta na zahvaćenoj strani. Može se koristiti ista početna doza po mjestu. Opet, liječenje mora biti individualizirano ovisno o specifičnim čimbenicima kao što su broj uključenih mišića i snaga kontrakcije. Općenito, bez obzira na to koji je preparat BTXA-a odabran, učinak liječenja može se vidjeti unutar jednog tjedna i može se očekivati da će trajati oko 3 mjeseca (26).

2.18. Pareza facijalisa

Pareza facijalisa ili Bellova pareza predstavlja slabost ili kljenut mimične muskulature jedne strane lica kao rezultat oštećenja sedmog moždanog živca, *nervusa facialis*. Podrazumijeva nemogućnost podizanja obrve, tj. nabiranja jedne strane čela, zatvaranja oka zahvaćene strane lica, izravnatu nazolabijalna brazdu, asimetrija osmijeha, viseći kut usana i nemogućnost simetričnog napuhivanja lica. Živac lica ima zaštitnu, estetsku i komunikacijsku odgovornost te rezultati njegove disfunkcije značajno utječu na socijalni aspekt i kvalitetu života. Paraliza lica može se riješiti operacijom, nekirurškom intervencijom i/ili fizikalnom terapijom iako često dolazi do spontanog djelomičnog ili potpunog oporavka. Kod oporavka mogu zaostati sinkinezija ili hiperkinezija. Sinkinezija je abnormalna kontrakcija mišića zbog aberantne regeneracije facijalnog živaca na zahvaćenoj strani lica, najčešće su to okulooralne ili oralnookularne sinkinezije. Hiperkinezija je pretjerana kontrakcija mišića koja može utjecati na obje strane lica, bilo zbog aberantne živčane aktivnosti ili kompenzacijske promjene na nezahvaćenoj strani. Aplikacija BTXA-a može privremeno paralizirati mišiće blokiranjem otpuštanja acetilkolina na

živčano-mišićnom spoju. Sinkinezija i hiperkinezija mogu se kontrolirati ciljanim injekcijama periokularnih mišića, perioralnih i cervikalnih mišića, koji su najvažniji za komunikaciju i funkciju. Tamo gdje nestabilni mišići lica i dalje postoje, aplikacija u neparaliziranu stranu može se koristiti za simetrizaciju lica. Botulinum toksin sve se koristi u liječenju paralize lica međutim, optimalna doza, interval liječenja, dodatna terapija i učinkovitost u usporedbi s alternativnim načinima liječenja nisu uspostavljeni. Trenutačno postoji manjak većih randomiziranih kliničkih studija koje bi pomogle u standardizaciji vremena, doziranja i protokola liječenja pareze facijalisa BTX-om (27).

2.19. Sijaloreja

Sijaloreja ili ptijalizam patološko je povećano lučenje slina kod djece starije od 4 godine. Patološka sijaloreja nastaje zbog različitih neuroloških poremećaja poput Parkinsonove bolesti, cerebralne paralize, ili kao nuspojava lijekova. Posljednjih godina otkriveno je da je botulinum toksin učinkovit i siguran u liječenju sijaloreje i može značajno smanjiti proizvodnju slina ako se ubrizga intraglandularno. Sekretorna funkcija ovisi o autonomnom živčanom sustavu, dok se bazni protok održava adrenergičkim putem izbjegavajući rizik od kserostomije. Za liječenje sijaloreje, svaka parotidna žlijezda prima od 25 do 60 U BTX injekcija po liječenju. Frakcionirana je u četiri doze jer je žlijezda podijeljena na prednju i stražnju te gornji, donji dio i svaki prima 15 U. Sve injekcije trebaju biti intraglandularne, pod ultrazvučnim navođenjem. Submandibularna žlijezda trebala bi primiti 40 U BTX injekcije frakcionirane u 2 doze za prednji i stražnji dio, svaki prima 20 U (4).

2.20. Cijeljenje rana i terapija hipertrofičnih ožiljaka

Produljena lokalna upala retikularnog dermisa može dovesti do povećane sinteze kolagena i taloženja glikozaminoglikana s produljenjem eritema i pojave hipertrofičnog ožiljaka.

Dugotrajna upalna reakcija može biti uzrokovana lokalnim čimbenicima kao što je ponovljena mikrotrauma kao rezultat napetosti rane ili sistemskim čimbenicima koji uključuju sistemske bolesti poput hipertenzije. Nekoliko studija pokušale su dokazati hipotezu da aplikacijom BTX-a nastaje paraliza rubova rane, minimalizirajući napetost na rubovima rane dok kolagen ne sazre. BTXA omogućava gotovo potpuno uklanjanje napetosti rane tijekom procesa ozdravljenja.

Hiperproliferacija fibroblasta jedan je od čimbenika koji rezultiraju pojavom hipertrofičnih ožiljaka i keloida. BTX može izravno modulirati aktivnost fibroblasta mijenjanjem apoptotičkih, migratornih i fibrotičkih staza na patološkim ožiljcima i tako poboljšati izgled (28).

2.21. Interakcija s drugim lijekovima, nuspojave i kontraindikacije za primjenu BTX-a

Botulinum toksin reagira s lijekovima koji utječu na neuromuskularnu transmisiju kao što su sukcinilkolin, aminoglikozidi, D-penicilamin i ciklosporin.

Aplikacijom preporučenih doza rijetko dolazi do nuspojava. Pojave li se, one su uglavnom privremene i ovise o primijenjenoj dozi. To mogu biti lokalne (osip, crvenilo, svrbež kože) ili sistemske (glavobolja, bol, napetost mišića, otežano gutanje i kratki dah) te alergijske reakcije (proljevanje, bol u trbuhu, vrtoglavica, gubitak apetita, suhoća u grlu, zujanje u ušima, pojačano znojenje i povišena tjelesna temperatura).

Kontraindikacije su:

- alergija na neki od sastojaka pripravka botulinum toksina
- trudnoća i dojenje
- djeca
- neuromuskularni poremećaji (npr. *Myasthenia gravis*, Eton-Lambertov sindrom)
- poremećaji koagulacije i antikoagulantna terapija
- kardiovaskularni poremećaji
- infekcija/upala na mjestu primjene
- infekcije kože (psorijaza, egzemi)
- konzumacija određenih lijekova (aminoglikozidi, kinini, klorokin, aspirin, blokatori kalcijevih kanala)
- psihološki nestabilne osobe (1).

3. HIJALURONSKA KISELINA

3.1. Povijest

Prva studija o hijaluronskoj kiselini potječe iz 1880. godine, kada je francuski znanstvenik Portes uočio je da se mucin iz staklastog tijela razlikuje od ostalih mukoida u rožnici i hrskavici, te ga je nazvao „hijalomucinom“. Ipak, tek su 1934. godine, Meyer i Palmer iz goveđeg staklastog tijela izolirali novi polisaharid koji sadrži aminošećer i uronsku kiselinu i nazvali ga hijaluronska kiselina, od „hijaloida“ (staklastog stakla) i „uronske kiseline“. Njezinu su kemijsku strukturu dvadeset godina kasnije (1954. godine) objasnili Meyer i Weissmann. Tijekom druge polovice dvadesetog stoljeća počinje sve veće razumijevanje bioloških uloga HA-a te posljedično tome i sve veći interes za njezinu proizvodnju i razvoj kao medicinskog proizvoda za brojne kliničke primjene. Postupci ekstrakcije iz životinjskog tkiva progresivno su optimizirani, ali su i dalje imali nekoliko problema, kao pročišćavanje od neželjenih onečišćenja (mikroorganizama, proteina). Prve studije o proizvodnji HA-a pomoću bakterijske fermentacije i kemijske sinteze provedene su 1970-ih. Balazs je 1979. godine razvio učinkovitu metodu za ekstrakciju i pročišćavanje polimera iz krijesti pijetla i ljudske pupkovine te je postavio temelje industrijskoj proizvodnji HA-a. Tijekom 1990-ih i 2000-ih posebna se pozornost posvećivala identificiranju i opisivanju enzima koji sudjeluju u metabolizmu HA-a, kao i razvoju tehnika bakterijske fermentacije za proizvodnju HA-a. Zbog sve većeg područja primjene, hijaluronska se kiselina još uvijek široko proučava kako bi se razjasnili njezini biosintetski putevi i molekularna biologija, optimizirala njezina biotehnoška proizvodnja, sintetizirali derivati s poboljšanim svojstvima te optimizirale i primijenile njezine terapijske i estetske svrhe (29).

3.2. Općenito o hijaluronskoj kiselini

Hijaluronska kiselina prirodni je nerazgranati polimer koji pripada skupini glikozaminoglikana. Difuzno se nalazi u epitelnom, vezivnom i živčanom tkivu kralježnjaka. Glikozaminoglikane odlikuje ista osnovna struktura koja se sastoji od disaharidne jedinice aminošećera (N-acetil-galaktozamin ili N-acetil-glukozamin) i uronske kiseline (glukuronska kiselina, iduronska kiselina ili galaktoza). Međutim, HA se razlikuje po tome što nije sulfatirana te je ne sintetiziraju Golgijevi enzimi, nego se proizvodi na unutarnjoj strani plazma-membrane. Osim toga, HA može

dostići vrlo veliku molekulsku masu (HMW, 108 Da), dok su drugi glikozaminoglikani relativno manji. Primarna je struktura HA linearni lanac koji sadrži ponavljajuće disaharidne jedinice povezane β -1,4-glikozidnom vezom. Svaki disaharid sastoji se od N-acetil-D-glukozamina i D-glukuronske kiseline spojenih β 1,3-glikozidnim vezama (29).

Hijaluronska kiselina široko je rasprostranjena u prirodi. Prisutna je u ljudima, životinjama (zečevima, govedu, pijetlovima) bakterijama (*Streptococcus equi*, *Streptococcus zooepidermicus*, *Streptococcus equisimilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus uberis*) algama, kvascima (*Cryptococcus neoformans*) i mekušcima. Ne nalazi se u gljivama, biljkama i insektima. Za odraslu osobu od 70 kg ukupni sadržaj HA u tijelu iznosi oko 15 grama. 50 % ukupnog HA nalazi se u koži, kako u epidermisu, tako i u dermisu, sinovijalnoj tekućini i staklastom tijelu te pupčanoj vrpci (4 miligrama/mL). Promet HA brz je (5 grama/dan) i regulira se enzimskom sintezom i razgradnjom. U ljudskom tijelu sintetizira se kao slobodni linearni polimer pomoću tri transmembranska izoenzima glikoziltransferaze nazvanih hijaluronska-sintaza, tj. HAS: HAS1, HAS2 i HAS3, čija se katalitička mjesta nalaze na unutarnjoj strani plazma-membrane. Razgradnja se u ljudskom tijelu postiže dvama različitim mehanizmima. Jedan je specifičan, posredovan enzimima hijaluronidaze, dok je drugi nespecifičan, oksidacijskim oštećenjima zbog reaktivnih vrsta kisika. Tako se razgrađuje 30 % HA u ljudskom organizmu. Preostalih 70 % katabolizira se sistemski. HA se uglavnom limfom transportira do limfnih čvorova, gdje se internalizira i katabolizira u endotelnim stanicama limfnih žila. Uz to, mali dio krvlju odlazi do jetre, gdje ga razgrađuju endotelne stanice jetre (29). Trenutno se komercijalna HA uglavnom proizvodi biotehnologijom (mikrobiološkom fermentacijom). Prve bakterije koje su se koristile za proizvodnju HA bili su streptokoki sojevi A i C. Danas mnogi komercijalni proizvođači potječu od *Streptococcus equi* (na primjer Restylane[®] od Q-medea AB i Juvederm[®] od Allergana). Optimalni uvjeti kulture bakterija za proizvodnju HA jesu temperatura od 37 °C, pH 7, uz prisutnost laktoze ili saharoze. Budući da rodovi streptokoka uključuju nekoliko ljudskih patogena, potrebno je točno i skupo pročišćavanje proizvedenog HA. Stoga se istražuju drugi mikroorganizmi radi sinteze HA. Idealan mikroorganizam za biosintezu HA treba biti siguran, ne izlučivati nikakve toksine te treba moći proizvesti najmanje 10⁶ Da HA. Kvaliteta i tržišna vrijednost povećavaju se njezinom čistoćom i molekularnom masom, što utječe na reološka i biološka svojstva. S obzirom na to da su prirodni organizmi koji proizvode HA većinom patogeni, metabolički inženjering trenutno predstavlja zanimljivu priliku za dobivanje HA od

nepatogenih, GRAS (*generally regarded as safe*) mikroorganizama. HA bez endotoksina može se sintetizirati pomoću rekombinantnih domaćina, kao što su *Lactococcus lactis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* i *Corynebacterium glutamicum*. Međutim, do sada nije postojao heterologni bakterijski domaćin koji bi proizveo toliko HA kao i prirodni. Stoga je sve veći napor da se nađe idealan bioreaktor za proizvodnju HA (29).

HA se koristi u različitim oblicima kao što su hidrogel, dermalno punilo, intradermalne injekcije, kreme, folije, pjene i gelovi za liječenje različitih vrsta bolesti (6). HAS2 polimerizira HA visoke molekulske mase (200 – 2000 kDa), dok HAS3 stvara HA s niskomolekularnom masom (< 20 kDa). HA s niskom molekularnom masom djeluje proupalno i prokancerozno, dok je visoko molekularna HA protuupalna i antikancerogena (30). HA igra višestruku ulogu u regulaciji različitih bioloških procesa i održavanju homeostaze u tijelu. (6) Mogla bi konjugirati s peptidima ako bi joj se produžio poluživot i poboljšala svojstva. Budući da HA ima kratak poluživot u krvi, razvijena je većina konjugata HA-lijek za lokalnu primjenu (29).

3.3. Kozmetička primjena

Hijaluronska kiselina u kozmetičke svrhe služi održavanju mladolikog izgleda lica i za poboljšanje crta lica kod mlađih bolesnika. Pri fiziološkom pH, molekule HA vežu vodu, čime pružaju „punoću“ tkivu. Hijaluronska kiselina modificira se kemijskim umrežavanjem između niti hijaluronske kiseline, što povećava čvrstoću, otpornost na stres i dužinu trajanja učinka punila. U kliničkom smislu, proizvodi s nižim modulom elastičnosti HA bolji su za fine linije i bore te za područja gdje čvrstoća nije toliko poželjna, na primjer na usnama. Proizvodi s visokim modulom elastičnosti prikladniji su za dublje podizanje tkiva poput umjerenih do teških nazolabijalnih nabora. Zbog toga što HA vežu vodu, kao rezultat može se javiti oticanje tkiva nakon injekcije. Mjesto ubrizgavanja treba očistiti odgovarajućim dezinficijensom kože. Za intradermalne injekcije koriste se kratke igle od 29 G, dok se za subdermalne injekcije koriste dulje igle od 27 G ili 29 G. Nakon ubrizgavanja uobičajene doze od 1 do 2 mL, na područje treba primijeniti gel za hlađenje kako bi se smanjila oteklina i modrice te provjeriti ima li kvržica ili neravnina. Pacijenti mogu nastaviti aktivnosti, ali ih treba uputiti da ne masiraju ili na drugi način manipuliraju područjem liječenja. Ako pacijent nije zadovoljan rezultatima, HA punila (za razliku od ne-HA punila) mogu se poništiti hijaluronidazom. Male količine HA mogu se otopiti s

15 do 30 jedinica hijaluronidaze, mada za veće količine može biti potrebno i 50 do 100 jedinica. Proizvodi HA nisu namijenjeni skladištenju i moraju se iskoristiti nakon otvaranja štrcaljke. Koriste se proizvodi kao što su Juvederm, Restylane, Belotero Balance i Voluma s vidljivim rezultatima od 6 mjeseci do godinu dana (31).

3.4. Temporomandibularni poremećaji

HA se prirodno nalazi u hrskavicama i u sinovijalnoj tekućini. Proteoglikanski monomeri vežu se za HA, tvoreći velike agregate koji su upleteni u kolageni matriks zdrave hrskavice (32). HA je komponenta izvanstaničnog matriksa zglobne hrskavice temporomandibularnog zgloba te ima ulogu u podmazivanju zglobova i zaštiti od habanja. Sintetiziraju ga hondrociti i sinovijalne stanice, čime dostiže visoku koncentraciju u sinovijalnoj tekućini. Karakteristična viskoznost i skliskost osiguravaju učinkovito podmazivanje zglobova. Elastičnost omogućava HA da djeluje kao amortizer i zaštititi hrskavicu temporomandibularnog zgloba od mehaničkog opterećenja. Nedostatno podmazivanje i nedostatna apsorpcija udaraca dovode do poremećaja matriksa (30).

U slučajevima unutarnjeg oštećenja temporomandibularnog zgloba, uključujući pomicanje diska, koncentracija i molekulska masa HA prisutne u sinovijalnoj tekućini smanjene su zbog razrjeđivanja i fragmentacija (33). Konzervativni tretmani temporomandibularnih poremećaja uključuju odmor, nesteroidne protuupalne lijekove i kortikosteroide, injekcije botulinum toksina i fizikalnu terapiju. Artrocenteza se ubraja među kirurške terapije koje se izvode kada nema učinkovitog odgovora na konzervativno liječenje. Obično se koristi za uklanjanje upalnih medijatora povezanih s nociceptivnim procesima unutar sinovijalne tekućine. Postupak se može povezati s ubrizgavanjem različitih lijekova, kao što su natrijev hijaluronat s ciljem povećanja učinkovitosti liječenja. Primjena intraartikularnih injekcija (npr. Durolane, Sinovial) omogućava podmazivanje i zaštitu zglobne hrskavice. Sastoji se od natrijeve soli hijaluronske kiseline (HA) koja je fiziološka komponenta sinovijalne tekućine (32). Izravna primjena egzogenih HA u temporomandibularni zglob može imati i protuupalne i analgetičke učinke. Uz to, primjena HA mogla bi aktivirati kaskadu biokemijskih događaja koji bi doveli do oporavka tkiva u zglobnoj hrskavici, što bi zauzvrat normaliziralo sintezu endogenih HA sinovijalnim stanicama i smanjilo koeficijent trenja zgloba. Ako djeluju zajedno, ti učinci mogu potencijalno smanjiti rizik oštećenja zglobnih površina. Također HA smanjuje ekspresiju upalnih citokina i srodnih enzima,

stabilizira hrskavični matriks, potiče proliferaciju hondrocita te povećava proizvodnju kolagena tipa II (33).

3.5. Bolesti parodonta

Hijaluronska kiselina ključni je element u mekim parodontalnim tkivima (gingivi, parodontalnom ligamentu) i u tvrdim tkivima kao što su alveolarna kost i cement. Brojne su njezine strukturne i fiziološke funkcije unutar tih tkiva (34). Ona doprinosi vezanju epitela na površinu zuba u normalnim uvjetima kao i nakon kirurškog liječenja (7) te ima regulatornu ulogu u upalnom odgovoru, pri čemu HA visoke molekularne mase degradira do molekularno niže molekularne mase. Fragmentacija se odvija pod utjecajem reaktivnih vrsta kisika, uključujući superoksidne i hidroksilne radikale opaženih tijekom parodontnih bolesti. Ti radikali inducirani su infiltracijom polimorfonuklearnih leukocita i ostalih upalnih stanica tijekom bakterijske fagocitoze. Fragmenti male molekulske težine imaju ulogu u signaliziranju oštećenja tkiva i mobilizaciji imunoloških stanica, dok HA visoke molekulske mase suzbija imunološki odgovor sprečavajući pogoršanja upale. HA s niskomolekularnom težinom posebno je istaknuta u gingivalnom tkivu pacijenata tijekom početnih faza parodontitisa kao rezultat djelovanja bakterijskih enzima (hijaluronidaze) (34). Endogena HA održava proces cijeljenja rana i reepitelizacije omogućujući promociju fibroblasta, njihovu proliferaciju, migraciju i adheziju na mjesto rane te stimulaciju proizvodnje kolagena (29). Lokalni HA može se koristiti kao terapijsko sredstvo kod gingivitisa, kroničnog parodontitisa, oralnih ulceracija tijekom postoperativnog razdoblja, implantacijskih postupaka, sinus-lifta, za brže izlječenje i smanjenje nelagode pacijenata tijekom postoperativnog razdoblja. Lokalni tretmani kao gel, sprej ili kreme (npr. Connettivina[®] by Fidia) učinkovitiji su nego sistemski (34).

Liječenje parodontnih bolesti obično započinje pružanjem informacija o bolesti s uputama o ispravnoj oralnoj higijeni. Nadalje, nekoliko studija sugerira kombinirani tretman koji se sastoji od struganja i poliranja korjenova te topikalne primjene HA. Johannsen i dr. primijetili su da primjena 0,2 mL 0,8 %-tnog HA gela (na početku i nakon tjedan dana) značajno smanjuje krvarenje u HA grupi u usporedbi s kontrolnom skupinom. Slično, Polepalle i sur. dokazali su uspješnost tretmana subgingivalne aplikacije 0,2 mL 0,8 %-tnog HA gela u području očnjaka i premolara, nakon čega slijedi struganje i poliranje korjenova. Došlo je do značajnog smanjenja

krvarenja pri sondiranju (BOP), indeksu plaka, dubini džepa (PPD) i gubitku kliničkog pričvrstka (CAL) u usporedbi s kontrolnim mjestom obrađenim samo struganjem i poliranjem korjenova (34).

3.6. Rekonstrukcija defekata interdentalnih papila

Rekonstrukcija nedostajuće interdentalne papile jedno je od važnijih pitanja za doktore dentalne medicine. Interdentalna papila važan je dio estetike osmijeha, posebno u području prednjih zubi. Gubitak interdentalne papile dovest će do stvaranja crnog trokuta te akumulacije plaka. Den Hartog i ostali izvijestili su da je 30 % slučajeva kruna nošenih dentalnim implantatom imalo komplikaciju gingivalnog crnog trokuta. Trenutno postoji mnogo mogućnosti liječenja gingivalnih crnih trokuta, uključujući restorativnu, ortodontsku terapiju i parodontalnu kirurgiju. Restorativnom terapijom izmijeni se oblik krune ili promijeni položaj kontaktne točke za smanjenje crnog trokuta. Ortodontsko liječenje moglo bi konvergirati korjenove koji se razilaze i zatvoriti dijastemu između zuba kako bi se stvorila gingivalna papila. Ipak, obje metode dugotrajne su i učinkovite su samo kod određenih bolesnika.

Nedavno su opisani neki slučajevi rekonstrukcije interdentalne papile s injekcijom gela hijaluronske kiseline. Prema studiji Jing Ni, Rong Shu, and Chaolun Li, pacijenti prvo primaju lokalnu infiltracijsku anesteziju (koja sadrži 1 : 100 000 epinefrina) 4 % artikaina. Zatim, injekciju HA gela (Qi Sheng Biological Agent, Šangaj, Kina) u dnu deficitarne papile. Dodatne injekcije apliciraju se 3 tjedna i 6 tjedana nakon početnog ubrizgavanja s istim postupkom i volumenom. Nakon ubrizgavanja gela s hijaluronskom kiselinom na mjestu aplikacije, tkivo postaje bijelo zbog povećanog lokalnog tlaka, ali se boja obično oporavlja nakon 10 minuta. Primjetno je povećanje visine ili volumena gingive papile nakon ubrizgavanja gela hijaluronske kiseline uz praćenje 3,6 i 12 mjeseci. Biotip gingive snažno je povezan s rezultatima terapije te može rezultirati nedostatnim liječenjem gingive papile. Studija Goncalvesa Motta i suradnika pokazala je histološkim procjenama da je debljina sloja vezivnog tkiva glavna razlika između debljeg i tanjeg biotipa gingive. Taj nalaz ukazuje na to da ima više gingivnih fibroblasta i kolagena vlakna u sloju vezivnog tkiva u bolesnika s debljim gingivalnim biotipom. Stoga bi ubrizgavanje hijaluronske kiseline moglo ubrzati proliferaciju gingivnih fibroblasta, promicati stvaranje kolagenih vlakana i na kraju rezultati povećanjem mekih tkiva (35).

3.7. Recidivirajući aftozni stomatitis

Oralne ulceracije predstavljaju vrlo uobičajenu neugodnu oralnu bolest sluznice koja može smanjiti kvalitetu života pacijenta zbog prisutnosti bolnog, probadajućeg osjećaja koji se može pogoršati tijekom svakodnevnih aktivnosti poput govora, jela ili čak pijenja. Uzroci uključuju mehaničku ili kemijsku traumu, zračenje i mikrobnu infekciju. Međutim, neke ulceracije poput recidivirajućeg aftoznog stomatitisa (RAS), poznatog kao afte, nepoznate su etiologije. Učestalost u općoj populaciji procjenjuje se na oko 25 % i to tijekom djetinjstva ili adolescencije (36). Glavna su terapijska sredstva lokalni pripravci koji imaju protuupalno djelovanje (37). Najčešće se koriste kortikosteroidi, analgetici i antimikrobni lijekovi (36). Novo je terapijsko sredstvo topikalno primijenjena 0,2 % HA. Glavna prednost HA je poticanje reepitelizacije te smanjenje boli i recidiva.

4. RASPRAVA

Prema Shinalu i Fillingimu, procjenjuje se da kronična orofacijalna bol obuhvaća oko 10 % odrasle populacije i do 50 % starijih ljudi. Iako bihevioralna terapija, fizioterapija, terapijske udloge i kirurgija ublažavaju bol, u većini je slučajeva to samo djelomično. Danas se široko koriste različiti analgetici, antidepresivi i opiodi koji pomažu u smanjenju simptoma bolesti, međutim zbog njihova kratkotrajnog djelovanja, moraju se češće koristiti, zbog čega se javljaju ozbiljne nuspojave, poput ovisnosti o lijekovima, gastrointestinalnih problema i hepatotoksičnosti. Iako se botulinum toksin u početku koristio za poboljšanje estetike lica, danas je stekao popularnost u liječenju bolova i poremećaja vezanih za povećane mišićne kontrakcije (5). Povećana kontrakcija mišića i bolovi odlike su patoloških stanja kao što su temporomandibularni poremećaji (dislokacija diska, trizmus), bruksizam, miofascijalna bol, mastikatorna mialgija, oromandibularna i cervikalna distonija, trigeminalna i postherpetična neuralgija, migrena, sindrom „prvog zalogaja“, *gummy smile*, hemifacijalni spazam, sinkinezija kod pareze facijalisa i sijaloreja. BTX dovodi do inhibicije pinocitoze acetilkolinskih molekula, fuzije vezikula, oslobađanja acetilkolina iz vezikula te njegovog prijenosa i oslobađanja u sinaptičku pukotinu. Time dovodi do relaksacije hiperaktivnih mišića. Osim toga, u terapijskom je smislu važan i analgetički učinak neurotoksina. On nastaje preko izravnog i neizravnog djelovanja na periferne nociceptivne neurone. Stoga primjenom BTX-a dolazi do atrofije zahvaćenih mišića, popuštanja njihove tenzije i dekompresije aferentnih neurona uslijed smanjivanja neurogene upale posredovane tvari P. Nakon detaljnog pregleda, identifikacije mišića uzročnika i definiranja kliničke dijagnoze slijedi odluka o terapiji. Kao alternativna terapija može se koristiti botulinum toksin u preporučenoj dozi od 80 do 100 jedinica. Pristup mišićima može biti ekstraoralan ili intraoralan pod kontrolom elektromiografije (1). Brojna su istraživanja pokazala uspješnost terapije botulinum toksinom u dentalnoj medicini s učinkom lokalne paralize i analgezije unutar 6 sati te kliničkim efektom unutar 24 – 72 sata (4). To se ne smije smatrati bezazlenim zahvatom te iziskuje visoku stručnost i educiranost osobe koja izvodi zahvat. U suprotnom, može doći do intravaskularne aplikacije BTX-a i pojave simptoma sličnih botulizmu (16).

Sljedeći je način alternativne terapije primjena hijaluronske kiseline. HA služi za razne biološke funkcije, poput održavanja elastoviskoznosti vezivnog tkiva, pružanja strukturne potpore

stanicama, regulacije diobe i migracije stanica tijekom razvoja i zacjeljivanja rana (30). U sinovijalnim zglobovima HA stvaraju hondrociti i sinoviociti. Hijaluronska kiselina ima važnu ulogu u stabilizaciji i prehrani zglobova. Također doprinosi elastičnosti i viskoznosti sinovijalne tekućine pružajući zaštitu od mehaničkih utjecaja (32). Egzogeni HA koji se aplicira u temporomandibularni zglob ima sposobnost stimuliranja proizvodnje endogenog HA. Taj je mehanizam izravno povezan s biokemijskom aktivnosti sinoviocita, poticanjem proliferacije hondrocita te povećavanjem proizvodnje kolagena tipa II. Osim toga HA ima analgetički učinak smanjujući aferentne impulse iz pogođene regije, pomažući tako desenzibilizaciji nociceptivne živčane završetke (33). Kopp i sur. utvrdili su da i HA i kortikosteroidi smanjuju kliničke simptome i disfunkciju bolesnika. Međutim, smatraju da je HA prikladniji tretman s obzirom na to da je fiziološka komponenta sinovijalne tekućine i stoga smanjuje rizik od napredovanja zglobne degeneracije (32). Molekula je također ključna komponenta u nizu faza povezanih s procesima zacjeljivanja rana u mineraliziranim i nemineraliziranim tkivima (upala, angiogeneza, stvaranje granulacijskog tkiva i epitela, pregradnja tkiva) (38). Stoga se koristi u terapiji bolesti parodonta te oralnih ulceracija kao što je recidivirajući aftozni stomatitis. Iz estetskih se razloga može aplicirati u područje deficitarnih interdentalnih papila. Nakon injekcije dolazi do povećanja visine i volumena papile, čime se zatvaraju neestetski crni trokuti. Temelj tog povećanja mekog tkiva povećana je proliferacija gingivnih fibroblasta i stvaranje kolagenih vlakana (35).

5. ZAKLJUČAK

Interes doktora dentalne medicine za botulinum toksin i hijaluronsku kiselinu raste s godinama, ponajprije zbog njihove kozmetičke primjene. Međutim sve se više spominje i istražuje njihov terapijski učinak za razna stanja s kojima se svakodnevno susreću u kliničkoj praksi. Brojnim kliničkim studijama dokazana je uspješnost primjene botulinum toksina i hijaluronske kiseline u dentalnoj medicini. Pokazali su se uspješnim načinom terapije kod pacijenata koji nisu odgovarali na standardnu terapiju ili u kombinaciju s njom. Međutim takvi oblici terapije i dalje su relativno novi u svijetu dentalne medicine te zahtijevaju daljnja dugoročna istraživanja i praćenja. Bolje dizajnirana klinička randomizirana kontrolirana ispitivanja s dugim praćenjima pružit će uvid u kliničku učinkovitost BTX-a i HA-a u dentalnoj medicini. Stoga možemo očekivati znatan napredak u sljedećih nekoliko godina u laboratorijskim pokusima i njihovim kliničkim primjenama.

6. LITERATURA

1. Vučićević Boras V. i suradnici. Orofacijalna bol. *MEDICINSKA NAKLADA*; 2019.190p
2. Fallacara A, Baldini E, Manfredini S, Vertuani S. Hyaluronic acid in the third millennium. *Polymers (Basel)*. 2018;10(7):36.
3. Srivastava S, Kharbanda S, Pal U, Shah V. Applications of botulinum toxin in dentistry: A comprehensive review. *Natl J Maxillofac Surg*. 2015;6(2):152.
4. Nagi R, Patil DJ, Sahu S, Jain S, Naidu GS. Botulinum toxin in the management of head and neck disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol [Internet]*. 2017;123(4):419–28.
5. V.R.M. M L, A.A. Del Bel Cury, Jabbari B, Lacković Z. Botulinum toxin type A in dental medicine. *Journal of Dental Research*; 2019. p. 8.
6. Bukhari SNA, Roswandi NL, Waqas M, Habib H, Hussain F, Khan S, et al. Hyaluronic acid, a promising skin rejuvenating biomedicine: A review of recent updates and pre-clinical and clinical investigations on cosmetic and nutricosmetic effects. *Int J Biol Macromol [Internet]*. 2018;120:1682–95
7. Manuele C, Antonio M, Paola V , Lorenzo S , Francesco C, Beatrice S, Michele A L , Francesco C, Salvinelli F C. Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*; 2016. p. 11.
8. Carrillo-marquez MA. Botulism. *Dep Pediatr Pediatr Infect Dis Div Univ Tennessee Heal Sci Center, Memphis, TN*. 2016;37(5).
9. Erbguth FJ. Historical notes on botulism, *Clostridium botulinum*, botulinum toxin, and the idea of the therapeutic use of the toxin. *Mov Disord*. 2004;19(SUPPL. 8):2–6.
10. Sandrini G, De Icco R, Tassorelli C, Smania N, Tamburin S. Botulinum neurotoxin type A for the treatment of pain: not just in migraine and trigeminal neuralgia. *J Headache Pain*. 2017;18(1).
11. Sundaram H, Signorini M, Liew S, Trindade De Almeida A R, Wu Y, Vieira Braz A, Fagien S, Goodman G J, Monheit G, Raspaldo H. *Global Aesthetics Consensus:*

- Botulinum Toxin Type A - Evidence-Based Review, Emerging Concepts, and Consensus Recommendations for Aesthetic Use, Including Updates on Complications. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2016;137(3):518-529.
12. Camargo CP, Costa CS, Gemperli R, Tatini MD, Bulsara MK, Riera R. Botulinum toxin for facial wrinkles. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;2014(9).
 13. Pons M, Meyer C, Euvrard E, Weber E, Sigaux N, Louvrier A. MR-guided navigation for botulinum toxin injection in the lateral pterygoid muscle. First results in the treatment of temporomandibular joint disorders. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* [Internet]. 2019;120(3):188–95.
 14. Okeson JP. TEMPOROMANDIBULARNI poremećaji i okluzija. 1.hrv izd. Valentić-Peruzović M. Zagreb: MEDICINSKA NAKLADA; 2008. 674p.
 15. Bakke M, Møller E, Werdelin L M, Dalager T, Kitai N, Kreiborg S. Treatment of severe temporomandibular joint clicking with botulinum toxin in the lateral pterygoid muscle in two cases of anterior disc displacement. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*. 2005;100(6):693–700.
 16. Emara A S, Faramawey M I, Hassaan M A, Hakam M M. Botulinum toxin injection for management of temporomandibular joint clicking. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2013;42(6):759–764.
 17. Miše I. Oralna kirurgija. MEDICINSKA NAKLADA; 1991. 443p
 18. Batifol D, Huart A, Finiels PJ, Nagot N, Jammet P. Effect of intra-articular Botulinum toxin injections on temporo-mandibular joint pain. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* [Internet]. 2018;119(4):319–24.
 19. Patel J, Cardoso JA, Mehta S. A systematic review of botulinum toxin in the management of patients with temporomandibular disorders and bruxism. *Br Dent J*. 2019;226(9):667–72.
 20. Fernández-Núñez T, Amghar-Maach S, Gay-Escoda C. Efficacy of botulinum toxin in the treatment of bruxism: Systematic review. *Med Oral Patol Oral y Cir Bucal*. 2019;24(4):416–24.

21. Freund B, Rao A. Efficacy of Botulinum Toxin in Tension-Type Headaches: A Systematic Review of the Literature. *Pain Pract.* 2019;19(5):541–51.
22. Ahmed F, Gaul C, Garcíá-Moncó JC, Sommer K, Martelletti P. An open-label prospective study of the real-life use of onabotulinumtoxinA for the treatment of chronic migraine: The REPOSE study. *J Headache Pain.* 2019;20(1):1–14.
23. Laccourreye O, Werner A, Garcia D, Malinvaud D, Tran Ba Huy P, Bonfils P. (2013). First bite syndrome. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases.* 2013;130(5):269–273.
24. Al-Fouzan AF, Mokeem LS, Al-Saqat RT, Alfalah MA, Alharbi MA, Al-Samary AE. Botulinum toxin for the treatment of gummy smile. *J Contemp Dent Pract.* 2017;18(6):474–8.
25. Duruel O. Ideal Dose and Injection Site for Gummy Smile Treatment with Botulinum Toxin-A: A Systematic Review and Introduction of a Case Study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2019;39(4):167–73.
26. Ozzello DJ, Giacometti JN. Botulinum toxins for treating essential blepharospasm and hemifacial spasm. *Int Ophthalmol Clin.* 2018;58(1):49–61.
27. Mehdizadeh OB, Diels J, White WM. Botulinum Toxin in the Treatment of Facial Paralysis. *Facial Plast Surg Clin North Am [Internet].* 2016;24(1):11–20.
28. Kasyanju Carrero LM, Ma W wei, Liu H fang, Yin X feng, Zhou B rong. Botulinum toxin type A for the treatment and prevention of hypertrophic scars and keloids: Updated review. *J Cosmet Dermatol.* 2019;18(1):10–5.
29. Fallacara A, Baldini E, Manfredini S, Vertuani S. Hyaluronic acid in the third millennium. *Polymers (Basel).* 2018;10(7):36.
30. Guo X, Watari I, Ikeda Y, Yang W, Ono T. Effect of functional lateral shift of the mandible on hyaluronic acid metabolism related to lubrication of temporomandibular joint in growing rats. *Eur J Orthod.* 2020;1–6.
31. Gutowski KA. Hyaluronic Acid Fillers: Science and Clinical Uses. *Clin Plast Surg*

- [Internet]. 2016;43(3):489–96.
32. Goiato MC, da Silva EVF, de Medeiros RA, Túrcio KHL, dos Santos DM. Are intra-articular injections of hyaluronic acid effective for the treatment of temporomandibular disorders? A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2016;45(12):1531–7.
 33. Ferreira N, Masterson D, Lopes de Lima R, de Souza Moura B, Oliveira AT, Kelly da Silva Fidalgo T, et al. Efficacy of viscosupplementation with hyaluronic acid in temporomandibular disorders: A systematic review. *J Cranio-Maxillofacial Surg* [Internet]. 2018;46(11):1943–52.
 34. Manuele C, Antonio M, Paola V, Lorenzo S, Francesco C, Beatrice S, Michele A L, Francesco C, Salvinelli F C. Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*; 2016. p. 11.
 35. Ni J, Shu R, Li C. Efficacy Evaluation of Hyaluronic Acid Gel for the Restoration of Gingival Interdental Papilla Defects. *J Oral Maxillofac Surg* [Internet]. 2019;77(12):2467–74.
 36. Dalessandri D, Zotti F, Laffranchi L, Migliorati M, Isola G, Bonetti S, et al. Treatment of recurrent aphthous stomatitis (RAS; Aphthae; canker sores) with a barrier forming mouth rinse or topical gel formulation containing hyaluronic acid: A retrospective clinical study. *BMC Oral Health*. 2019;19(1):1–10.
 37. Nolan A, Baillie C, Badminton J, Rudralingham M, Seymour RA. PDFlib PLOP: PDF Linearization, Optimization, Protection The efficacy of topical hyaluronic acid in the management of recurrent aphthous ulceration. *J Oral Pathol Med*. 2006;35:461–5.
 38. Ryan M. W. Hyaluronan and its Potential Role in Periodontal Healing. *Periodontology*. 2002;(April):148.

7. ŽIVOTOPIS

Iva Mesarić rođena je 15. rujna 1995. godine u Čakovcu. Nakon završetka II. osnovne škole Čakovec 2010. godine upisuje Gimnaziju Josipa Slavenskog Čakovec. Studij Dentalne medicine na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje 2014. godine.

Tijekom studija asistira u privatnoj stomatološkoj ordinaciji u Zagrebu.