

T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

BÜYÜME DÖNEMİNDE BOTULİNUM TOKSİN TİP-A İLE KAS
DENERVASYONU YAPILMASININ KRANİYOFASİYAL MORFOLOJİ
ÜZERİNDEKİ ETKİSİ
(SIÇANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA)

Dr. Berfu BABUCÇU

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

ZONGULDAK

2006

T.C.
ZONGULDAK KARAELMAS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

**BÜYÜME DÖNEMİNDE BOTULİNUM TOKSİN TİP-A İLE KAS
DENERVASYONU YAPILMASININ KRANİYOFASİYAL
MORFOLOJİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ
(SIÇANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA)**

Dr. Berfu BABUCÇU

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. Orhan BABUCÇU

ZONGULDAK

2006

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Büyüme Döneminde Botulinum Toksin Tip-A ile Kas Denervasyonu Yapılmasının Kraniyofasiyal Morfoloji Üzerine Etkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Berfu BABUCCU

Tez Savunma Tarihi: 10/11/2006

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Orhan BABUCCU

Prof. Dr. Osman LATİFOĞLU
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Reha YAVUZER
Üye

Doç. Dr. Orhan BABUCCU
Üye

Doç. Dr. A. Eksal KARGI
Üye

Yrd. Doç. Dr. Mübin HOŞNUTER
Üye

UYGUNDUR
10.11.2006

Prof. Dr. Sadi GÜNDOĞDU
Dekan

TEŞEKKÜR

Tüm uzmanlık eğitimim süresince ve bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde hiçbir zaman desteğini ve bilgisini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Orhan Babuççu'ya, eğitim sürecimde değerli katkıları ile yetiştiğim kliniğimiz hocaları Sayın Doç. Dr. Eksal Kargı ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Mübin Hoşnuter'e, çalışmamın gerçekleştirilmesinde ilgi ve yardımlarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı hocalarımdan Sayın Prof. Dr. Vildan Sümbüloğlu ve Sayın Doç. Dr. Handan Ankaralı'ya ve Patoloji Anabilim Dalı hocalarımdan Sayın Yrd. Doç. Dr. Gamze Numanoglu'na, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden Sayın Doç. Dr. Mustafa Sözen'e, 6 yıl boyunca beraber emek verdiğimiz tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma içtenlikle teşekkür ederim.

ÖZET

Babucçu B., Büyüme döneminde botulinum toksin tip-A ile kas denervasyonu yapılmasının kraniyofasiyal morfoloji üzerindeki etkisi (sıçanlarda deneysel çalışma), Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Tezi. Zonguldak, 2006. Normal fonksiyon gösteren morfolojik yapının oluşabilmesi için kraniyofasiyal bölgeyi oluşturan yapıların tümünün, belli bir uyum ve denge içinde büyüme ve gelişmelerini tamamlamaları gereklidir. Aksi taktirde kraniyofasiyal bölgeyi oluşturan parçalardan herhangi birinin büyüme ve gelişmesinde oluşacak değişiklik tüm yapıların büyüme ve gelişimini de etkileyecektir. Kraniyofasiyal bölgenin büyüme ve gelişimini kontrol eden faktörlerden biri nöromusküler aktivitedir. Çalışmamızda, botulinum toksin-A ile kemodenervasyon yapılarak kas aktiviteleri değiştirilmiştir. Bu amaçla toplam 49 adet, 15 günlük Wistar türü erkek sıçanlar kullanılarak deney grupları hazırlandı. Kontrol grubuna hiçbir girişim uygulanmadı, sham enjeksiyon grubuna botulinum toksini ile aynı volümde serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı, masseter grubunda sağ masseter kasına, temporalis grubunda sağ temporal kasa botulinum toksin-A (BOTOX®) enjeksiyonları yapıldı. Çalışma sonuçları kas ağırlıkları, kas histopatolojisi ve direkt osteometrik ölçümler yapılarak değerlendirildi. Masseter ve temporal kas ağırlıklarının kemodenervasyon yapılan gruplarda belirgin düzeyde azalmış olduğu, histopatolojik incelemede ise botulinum toksini uygulanan kaslarda atrofi ve dejenerasyon ile uyumlu bulguların varlığı saptanmıştır. Direkt osteometrik ölçümlerde masseter ve temporal kas denervasyonunun, nazal kemik boyu, premaksilla, maksilla, zigomatik arkın uzunluk ve genişliklerini, mandibula ramus, koronoid çıkıntı boyutlarını anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir. Çalışmada ortaya konulan sonuçlar kraniyofasiyal iskeletin büyüme ve gelişmesinde kas aktivitesinin önemini vurgular niteliktedir. Daha önemlisi bu etki noninvaziv olarak botulinum toksin-A (BOTOX®) kullanılarak oluşturulabilmektedir.

Anahtar kelimeler: kraniyofasiyal, büyüme, gelişme, kemodenervasyon, Botox.

SUMMARY

Babucçu B., The effect of muscle denervation during growth period by botulinum toxin A on craniofacial morphology (experimental study on rat model), Zonguldak Karaelmas University Faculty of Medicine, Thesis in Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery, Zonguldak, 2006. In order to normally functioning morphologic structure is formed, all the components constituting craniofacial region have to accomplish the growth and development in a perfect balance and harmony. Otherwise, deviation in the development and growth of the any component belonging to craniofacial structure will certainly affect other growth of the components. The neuromuscular activity is one of the factors controlling craniofacial growth and development. In our study, the muscular activity was modulated with botulinum toxin-A. Overall 49 rats were included study groups, 15 days old male wistar rats were used. Experimental groups were consisted of sham group, in which saline were injected into right masseter and temporalis muscles; control group without any intervention; masseter and temporalis groups, in which the botulinum toxin-A (BOTOX ®) were injected into the right masseter and temporalis muscles, respectively. Muscle weight (temporalis and masseter), histopathology, and finally direct osteometric measurements were used in evaluation. As a result, the weight of the chemodenervated masseter and temporalis muscles were found to be significantly reduced, additionally atrophy and degeneration were observed in the histopathology of the same groups, mentioned above. Osteometric measurements revealed that, masseter and temporalis muscles chemodenervation caused significant decrease in the nasal bone length, premaxilla, maksilla, zygomatic arch length and width, and mandibular ramus, and coronoid process dimensions. The results obtained from this study underline the effect of the muscle activity on the and growth. More importantly, this effect can be simulated non-invasively with the botulinum toxin-A (BOTOX ®).

Key words: craniofacial, development, growth, chemodenervation, Botox.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
• TEŞEKKÜR.....	iii
• ÖZET.....	iv
• İNGİLİZCE ÖZET.....	v
• İÇİNDEKİLER.....	vi
• SİMGELER ve KISALTMALAR.....	vii
• ŞEKİLLER.....	viii
• TABLOLAR.....	x
• GİRİŞ	1
• GENEL BİLGİLER	1
2.1. Büyüme ve Gelişme Kavramlarının Açıklanması	1
2.2. Kraniofasial Embriyoloji.....	2
2.3. Kraniofasial Kemik Yapıların Büyüme ve Gelişimi.....	4
2.4. Kraniofasial Bölgenin Büyüme ve Gelişimini Etkileyen Faktörler.....	5
2.5. Yüz Gelişimi.....	8
2.6. Mandibula Gelişimi.....	9
2.7. Kraniofasial Büyüme ve Klinik	10
2.8. Kemodenervasyon Ajanları.....	22
• GEREÇ ve YÖNTEM.....	29
3.1. Deney Grupları.....	30
3.2. Botulinum Toksininin Hazırlanması ve Enjeksiyonu.....	31
3.3. Değerlendirme.....	32
3.4. İstatistiksel Yöntem.....	36
• BULGULAR	
4.1. Kas Ağırlıkları.....	37
4.2. Kas Histopatolojisi	38
4.3. Direkt Osteometrik Ölçümler.....	40
• TARTIŞMA.....	50
• SONUÇ ve ÖNERİLER	58
• KAYNAKLAR.....	59

SİMGELER ve KISALTMALAR

ach	Asetilkolin
A.Ş	Anonim şirketi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
FDA	Food and Drug Administration
gr	Gram
H&E	Hemotoksilen-Eosin
IU	İnternasyonel ünite
K	Kontrol Grubu
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
LD50	Letal doz
ml	Mililitre
mm	Milimetre
M	Masseter Grubu
NSF	N-ethylmaleimide-sensitive fusion proteini
SNAPs	N-ethylmaleimide-sensitive fusion–attachment proteinleri
SNAREs	SNAP reseptörleri
SF	Sham-enjeksiyon Grubu
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
T	Temporalis Grubu
TME	Temporomandibular eklem
US	United States
VAMP	Vesicle-associated membrane protein
ver.	Versiyon
μ	Mikron
°C	Santigrat derece

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Fetal dönemde kondrokranium ve Meckel kartilajının mandibulanın yapısını oluşturmaları	9
2.2. Botulinum toksini etki mekanizmasının şematizasyonu; 1) Reseptöre bağlanma, 2) İnternalizasyon, 3) Translokasyon ve blokaj, 4) Yeni liflerin filizlenmesi, 5) İnaktive sinir terminalinde fonksiyonların geri dönüşü	26
3.1. Masseter ve temporalis kaslarına yapılan enjeksiyon noktaları	31
3.2. Sıçanlarda massater ve temporalis kaslarının anatomisi	32
3.3. Kontrol grubunda sıçanların sakrifiye edilerek, kas yapılarının ortaya konulması	33
3.4. Dijital kumpas ile osteometrik ölçümlerin yapılması	34
3.5. Direkt osteometrik ölçümler için hazır hale getirilmiş kraniyofasiyal kemik yapıları	34
3.6. Sıçan kraniyofasiyal kemik yapısındaki direkt osteometrik ölçümlerin yapıldığı referans noktaları	36
4.1. Botulinum toksini yapılan kaslardaki histopatolojik bulgular; a: Kasın boyuna kesiti, (H&E x40), kaslarda minimal çizgilenme kaybı, çekirdek internalizasyonu ve multinükleasyon b: Kasın enine kesiti, (H&E, x20), kas liflerinin çaplarında azalma	39

4.2. Botulinum toksini yapılan kaslardaki histopatolojik bulgular;	39
a: Kasın enine kesiti, (H&E, x40), kas liflerindeki belirgin çizgilenme kaybı;	
b: Kasın enine kesiti, (H&E, x40), miyonekroz ve endomyozial fibrozis	
4.3. Grupların karşılaştırılması sonucunda masseter ve temporal gruplarında	48
zigomatik ark deformasyonunun görünümü	
4.4. Grupların karşılaştırılması sonucunda masseter ve temporal gruplarındaki	49
mandibula ramus ve koronoid gelişim geriliğinin görünümü	

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Brankial arkusların türevleri ve oluşturduğu yapılar	3
3.1. Direkt osteometrik ölçüm noktalarının anatomik olarak tanımlanması	35
4.1 SF grubunda kas ağırlıklarının karşılaştırılması	37
4.2. M grubunda kas ağırlıklarının karşılaştırılması	38
4.3. T grubunda kas ağırlıklarının karşılaştırılması	38
4.4. Kontrol grubuna ait sağ ve sol taraf kraniyofasiyal ölçümlerin karşılaştırılması. “Ortalama” sütununda, fark ortalaması negatif ise sağ taraf ölçümü sol tarafa göre küçük, pozitif ise büyüktür ($P \leq 0,05$)	41
4.5. SF grubuna ait sağ ve sol taraf kraniyofasiyal ölçümlerin karşılaştırılması. (Bkz 4.4)	42
4.6. Masseter grubuna ait sağ ve sol taraf kraniyofasiyal ölçümlerin karşılaştırılması. (Bkz 4.4)	43
4.7. T grubunda sağ-sol farklarının anlamlılıklarına ait toplu sonuçlar yer almaktadır. (Bkz 4.4)	45
4.8. Sağ ve sol taraf osteometrik ölçümlerinin oranlanmasıyla elde edilen değerler bakımından gruplar arasındaki farklılıkların saptanması	46
4.9. Gruplar arası farklılıkların tanımlanması	47

GİRİŞ

Sanatçılar için insan siması ruhun aynasıdır. Biyologlar içinse yüz belirgin yapısal çeşitliliği yansıtır. Bu tür çeşitlilikler iskelet yapıda nasıl oluşur? İskelet oluşumunu kontrol eden mekanizmalarla vücudun diğer bölgelerinin oluşumunda rol oynayan mekanizmalar aynı mıdır? (1). Cevaplar nöral çentik hücrelerini oluşturan, göçlerinin kontrol eden, ve kıkırdak ile kemik hücrelerine başkalaşımalarında rehberlik eden moleküler donanımda yatmaktadır.

GENEL BİLGİLER

2.1. Büyüme ve Gelişme Kavramlarının Açıklanması

Büyüme ve gelişme birbiriyle yakından ilişkili iki kavramdır. Büyüme, sözcük anlamı olarak herhangi bir şeyin hacim olarak artışını ifade eder. Gelişme terimi ise hücre ve doku seviyesindeki farklılaşmayı, olgunlaşmayı ve kontrol sistemlerini içeren biyolojik olayları tanımlamak için kullanılır (2). Genel olarak bakıldığında gelişme, hücre ve doku seviyesindeki olgunlaşma ile başlar, büyüme ile beraber belli bir fonksiyonun gerçekleşmesine yönelik normal morfolojik yapının oluşmasını sağlar. Herhangi bir yapının büyüme, gelişme ve şekillenmesi anlamına gelen morfogenezi esnasında büyüyen tüm parçalar birarada ve belirli bir denge içinde fonksiyon gösterir. Sonuç olarak, eş zamanlı oluşan farklı parçaların, fonksiyonel bir bütün olarak birleşmesi ile morfolojik yapı belirlenir (2,3). Bütünü oluşturan parçalardan herhangi birinin büyümeye devam etmesi yeni bir dengesizlik durumuna yol açarak uyarı sinyallerinin meydana gelmesine ve buna bağlı olarak diğer parçaların dengeyi tekrar sağlamak için büyüme ve gelişmelerine neden olur. Uyum sağlandığında uyarı sona erer ve bölgesel büyüme aktivitesi durur. Bu süreç çocuklukta ve daha az olarak da yetişkin hayat boyunca devam eder (3,4).

Normal fonksiyon gösteren morfolojik yapının oluşabilmesi için, kraniyofasiyal bölgeyi oluşturan yapıların da tümünün belli bir uyum ve denge içinde büyüme ve gelişmelerini tamamlamaları gereklidir (5). Kraniyofasiyal dokuların normal morfogenezi, hücrelerin ardışık olarak sıra ile kompleks bir migrasyonunu ve

hücre gruplarının birbirleri arasındaki etkileşimini içermektedir. Morfogenezin 25. gününden 45. gününe kadar ki bu kısa aralıkta insan embriyo örnekleri ile elde edilen sistematik çalışmada, kraniyofasiyal kompleksin gelişim dizesi hakkında elde edilen bulgularla bu sonuçlara gidilebilmiştir. Kuşkusuz bu materyaller çok yeterli değildir ve ancak çok sayıda embriyodan seri örneklemeler ile elde edilen sonuçlar daha genel bir bakış açısı kazanmamızı sağlayabilir (6).

Morfogenez sırasında oluşacak anormalliklerin anlaşılabilmesi ve düzeltilmesi için, öncelikle normal büyüme ve gelişme sürecinin bilinmesi gereklidir. Morfogenez sürecini şekillendiren, yönlendiren ve kontrol eden faktörlerin belirlenmesi, gerektiğinde kontrol mekanizmasının işleyişini değiştirerek, büyüme ve gelişmenin istenilen şekilde yönlendirilmesine imkan sağlayacaktır. Doku farklılaşması, zamanlaması, oranı ve yönü ile hücresel bölümlerin büyüklüğü, bunları kontrol eden faktörleri değiştirerek belirlenebilir. Kemik ve yumuşak doku gelişiminde de aynı prensipler geçerlidir. Blast hücreleri, değişik uyarılar ile farklı şekillerde özelleşebilen hücrelerdir. Mekanik güçler, biyoelektrik potansiyeller, hormonlar, enzimler ve diğer ajanlar tarafından hücre zarındaki reseptörler aktive olur. Uyarının hücrede neden olduğu reaksiyon zincirinin ardından, farklılaşma, olgunlaşma ve hücre bölünmesi meydana gelir. Bu değişimin ardından oluşan hücrenin özelliklerine uygun fonksiyonlar başlar (2,4).

2.2. Kraniyofasiyal Embriyoloji

İnsan embriyosunun kraniyal bölümü, üçüncü gestasyonel haftanın başında, her üç germinal tabakanın spesifik gelişimine başlamasıyla erken oluşum sürecine girer. Gelişimin dördüncü haftasından sekizinci haftasına kadar olan süre içerisinde, embriyonun kraniyal bölümü total vücut uzunluğunun $\frac{1}{2}$ si kadar bir boyuta erişir. Doğumda kraniyal bölge vücudun $\frac{1}{4}$ ü boyutunda olup, ancak erişkinlik döneminde nihayi boyutu olan total vücut uzunluğunun %6-8 i kadar olmaktadır. Kafa tabanı doğumda gelişiminin %65'ini, 10 yaşına gelindiğinde ise %95'ini tamamlar. Yüz gelişiminin tamamlanması ise daha uzun bir süre alır ve doğumda %45'i tamamlanmışken, 10 yaşına gelindiğinde bu oran ancak %65 düzeyindedir. Geçici dişlerin ve ardından kalıcı dişlerin çıktığı dönem, yüz gelişiminin hızlandığı dönemdir. Kalıcı dişlerin çıktığı dönemde yüz/kranium oranı 1/2.5 olur. Yüz kemik

yapısının gelişimi ile bu oranların değişimi pubertenin tamamlanmasına kadar devam eder (7).

Gelişimin dördüncü haftasında insan embriyosunun kraniyal bölümü, balık embriyosuna benzer. *Brankial* terimi embriyonik arkları tanımlamak için kullanılan ve Yunanca *solungaç* kelimesinden köken alan bir kavramdır. Ancak bazı yazarlar *brankial ark* terimi yerine *faringeal* ark terimini kullanmayı tercih etmişlerdir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Brankial arkusların türevleri ve oluşturduğu yapılar

Brankial Arkus	Sinir	Kaslar	Kemik
1 Mandibular	V. Trigeminal	Temporal, masseter, medial ve lateral pterigoidler, mylohiyoid, digastrik ön karnı, tensor palatini, tensor timpani	Premaksilla, maksilla, zigoma, temporal kemiğin bir bölümü, meckel kıkırdağı, malleus, inkus
2 Hyoid	VII. Fasiyal	Buksinatör, aurikularis, frontalis, platisma, orbikularis oris ve okuli, digastrik arka karnı, stilohyoid, stapedius	Stapes, stiloid çıkıntı, hyoid gövdesinin üst bölümü ve küçük boynuzu
3	IX. Glossofaringeal	Stilofaringeus	Hyoid gövdesinin alt bölümü ve büyük boynuzu
4 - 6	X. Vagus Sup. Laringeal dal (4. arkus) Rek. Laringeal dal (6. arkus)	Krikoid, levator palatini, farinks konstrüktörleri Larinksin intrinsik kasları	Larinksin kıkırdakları (tiroid, aritenoid, krikoid, kornikulat ve kuneiform)

Dördüncü haftanın başında, nöral krestin bağ ve mezenşimal doku elemanlarından brankial arklar gelişmeye başlar. Dördüncü haftanın sonunda ilk üç

kraniyal ark embriyonun dış yüzünde belirgin olarak görülür hale gelir. Dördüncü ark bu evrede tanımlanmasına rağmen henüz fazla farklılaşmamıştır. Beşinci ark sıklıkla yoktur, ancak kartilajinöz komponent içermeyen bir şekilde rudimenter olarak da bulunabilir. Altıncı brankial arkın sınırları ise belirgin değildir. Her brankial ark esas olarak kartilaj, aortik ark arteri, sinir ve kas olmak üzere dört doku komponenti içerir (8).

2.3. Kraniyofasiyal Kemik Yapıların Büyüme ve Gelişimi

Kraniyofasiyal kemik yapı, 8 adet kraniyal ve 14 adet yüz kemiği olmak üzere toplam 22 ayrı kemik yapının birleşmesinden oluşur . İntrauterin kraniyofasiyal kemik oluşumu, intramembranöz ve endokondral olmak üzere iki şekilde sağlanır (9). Kafa tabanını oluşturan kemik yapıların çoğunluğu endokondral kemikleşme ile oluşurken, bunun dışındaki kraniyofasiyal kemikler intramembranöz kemikleşme ile oluşur. İntramembranöz kemik oluşumu gestasyonun ikinci ayında vaskülarize mezenşim ve embriyonik bağ dokusu içindeki bir merkezden başlar ve ışınal tarzda çevreye yayılır. İntramembranöz kranial kemiklerin herbiri diğer bir kranial kemik ile birleştiği sutura hatlarına kadar kemikleşmesini sürdürür. Bu suturalar, osteojenik hücreler, vasküler yapılar ve gevşek bağ dokusundan oluşur. Daha sonra beyin büyümesiyle birlikte oluşan genişletici kuvvetlerin etkisiyle suturalarda kemik oluşumu sağlanır. İntramembranöz kemikleşme ve endokondral kemikleşme arasındaki en önemli fark, kemikleşmenin olduğu hücresel ortamdır. Endokondral kemikleşme daha önce varolan kıkırdak modelinin kemikleşmesi ile oluşur. İntrauterin dönemde kafatabanını oluşturan kıkırdak yapı önde gelişen nazal septum çevresinde yerleşmiş kıkırdaklardan oluşan nazal kapsülle ilişkilidir. Kafa tabanının büyümesi ile gelişmekte olan yüz yapıları öne doğru itilir; oranazal pasaj genişler. Nazal septum bir adaptasyon bölgesi olarak uyum sağlayıp vertikal yönde büyüyerek orta yüz bölgesindeki kemiklerin gelişmesini yol açacak şekilde yüzün uzamasına neden olur. İntrauterin hayatta endokondral kemikleşme ile oluşan kafa tabanı, yüz kemiklerinin gelişiminde en önemli yapı olan brankial arkların kıkırdaklarıyla yakından ilişkilidir (9,10).

Kranial bölgedeki kemik yapının her iki yüzü periostla kaplı olup, iç kısmı dura ile temas halindedir. Kemiğin periosteal ve dural yüzeylerinde meydana gelen

kemik depolanması ve rezorpsiyonu ile kemiğin yeniden şekillenmesi (*remodelling*) sağlanır. Doğumla birlikte 10 yıl boyunca bu süreç devam eder. Bu evrenin sonunda suturalar kapanır, intramembranöz kemikleşme ile oluşan kranial yapılar tek bir yapı şeklinde birleşir.

Kraniyofasiyal bölgenin büyümesi intramembranöz ve endokondral büyüme bölgelerinin değişik oran ve zamanlarda gelişmesini içeren bir süreçtir. Buschang ve ark., insanda birbiri ile uyumlu ve tutarlı bir kraniyofasiyal olgunlaşma derecesi olduğunu göstermişlerdir (11). Bir bölgenin veya yapının nispi olgunlaşması büyüme potansiyelinin bir göstergesi olup; olgunlaşma derecelerinin varlığı, değişik adaptif büyüme potansiyellerin olduğu anlamına gelir. Bir başka deyişle, herhangi bir zamanda kraniyofasiyal kompleksin değişik bölgelerine aynı hormonal veya biyomekanik stimuluslar farklı sonuçlar ortaya çıkarmaktadır. (12)

2.4. Kraniyofasiyal Bölgenin Büyüme ve Gelişimini Etkileyen Faktörler

Çok erken dönemlerden itibaren intrinsik faktörler büyüme üzerinde etkilerini gösterirler. Bu kontrol sistemleri, genetik, endokrin, nörotropik, nörovasküler ve nöromuskuler sistemler olarak tanımlanırlar. Bu faktörlere kısaca göz atacak olursak;

Genetik: Kraniyofasiyal gelişim, anatomik karmaşıklığına rağmen, moleküler ve genetik temelde açıklanabilir. *Cell lineage marking*, monoklonal antikorlar, doku kültürleri ve rekombinant DNA teknolojileri gibi deneysel uygulamaların çeşitliliği ve artışı, bu sürecin anlaşılmasında önemli köşe taşları olmuşlardır. Bu çalışmalar sonunda kraniyofasiyal yapıların morfogenezinin belirlenmesinde rol oynayan birçok düzenleyici moleküller ve genler tanımlanmıştır. (13)

Genetik faktörler daha önceden programlanmış bölgesel büyüme miktarını, hızını ve yerleşimini belirlemektedir. Genetik faktörlerin önemini iki ciddi çalışma ile vurgulayabiliriz. 1965’de Hunter, vertikal yüz boyutlarının kalıtımsallığının yüzün anteroposterior boyutlarından daha fazla olduğunu, öte yandan çevresel faktörlerin ve fonksiyonel değişikliklerin (örn: maloklüzyon) yüzün anteroposterior boyutlarını daha çok etkilediğini belirtmiştir (14). 1973’de Harris ve ark. kraniyofasiyal yapının en çok ve en az kalıtımsal özellik taşıyan bölgelerini tanımlamışlardır (15).

Endokrinal: Yüz büyümesinde endokrinal kontrol mekanizmalarının etkin olduğu gösterilmiştir (16,17). Bir diğer çalışmada da büyüme hormonu replasman tedavileri sonucunda çeşitli kraniyofasiyal komponentlerin değiştiği ve bu farklılığın onların nispi büyüme potansiyelleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. (12)

Nöromuskuler: Boyd ve ark. (1967), nörovasküler faktörleri araştırırken, mandibulanın gonial ve koronoid bölgelerindeki büyüme hızı ve yönünün, nöromuskuler etkiler tarafından saptandığını vurgulamışlardır (18). Warner (1969), kemiklerin normal şekil ve boyutlarına ulaşmasında fonksiyonel stimülasyonların önemi üzerinde durmuştur (19).

Nörotropik: Nörotropizm, vücut yapıları arasındaki genel bütünlüğün sağlanmasında ve büyümenin düzenlenmesinde rol oynayan non-membranöz nöroselüler hücre aktivitelerini ifade eden bir terimdir. Moss'a göre nörotropizm; nörol transmisyon ile kesin olarak farklılaşmış olan bölgelerde, beyin ve diğer nöral merkezlerin periferal dokuları düzenlemesi ve periferal dokularında geri besleme yöntemi ile düzenleyici merkezler üzerinde etkili olmasıdır (20). Nörotropizm kavramı, özellikle kas gelişimi ve ekstremita rejenerasyonu gibi konuları içeren gelişim biyolojisince iyi tanımlanmıştır. Koski (1973), olası postnatal nörotropik etkileri işaret ederek, nörol faktörlere bağlı olarak kemik sınırlarındaki değişimin kuvvetli kanıtlarını göstermiştir (21).

Kraniyofasiyal büyüme ile ilgili genetik, nörojenik, mekanik ve çevresel etkiler olmak üzere çok sayıdaki faktörün ele alındığı teoriler ortaya atılmıştır (2). Kasların uyguladığı biyomekanik gücün kemik yapılar üzerindeki etkileri 1892 yılında Wolff tarafından tanımlanmıştır. Watzek'in kraniyofasiyal büyüme ve gelişimin sutur hatlarından olduğu teorisi ise birçok çalışmada nazofrontal, premaksillomaksiller, fasiyal ve zigomatikotemporal sutur füzyonları sonucunda büyüme geriliği olduğunun gösterilmesiyle desteklenmiştir. Kraniyofasiyal bölge büyüme teorilerinde bir başka yaklaşım ise, nazomaksiller kompleksin aşağı ve öne doğru büyüme kapasitesi ve dolayısıyla orta yüzün anterior ve inferiora doğru büyüme hareketini savunan Scott'ın nazal septum teorisidir (8).

Moss'un fonksiyonel matriks hipotezinde ise büyüme ve gelişmenin fonksiyona dayalı bir süreç olduğu öne sürülmüştür (5,20). Kraniyofasiyal bölgede yer alan hiçbir parça gelişimsel olarak bağımsız değildir. Kraniyofasyal yapıdaki

büyüme, sadece kemik ve onu çevreleyen kemiğe ait yapılarla sınırlı değildir. Bu bölgedeki kemiklerinin büyümesi, gelişmesi ve şekli; kaslar, dil, yanak, mukoza, tonsiller, yumuşak doku, sinirler, beyin, farinks, vasküler yapılar ve hava yolu gibi aynı bütün içinde yer alan diğer bölgesel yapılarla da bağımlıdır. van Limborg kraniyofasiyal gelişimde kondrokraniyal ve membranöz gelişim modelleri tanımlamıştır. Basikraniyal gelişimin enkondral kısım hücrelerinin genetik çoğalma kapasitesi hormonlar, genel çevresel faktörler gibi epigenetik faktörlerin kontrolündedir. Membranöz gelişimde ise tanımlanan faktörlerin birbirleriyle etkileşimlerindeki denge sonucu ortaya çıkan morfolojik yanıtın, esas olarak lokal epigenetik ve lokal çevresel (mekanik kuvvetler) faktörlerin düzenleyici rolü vurgulanmaktadır (22).

Büyüme ve gelişimi kontrol eden faktörlerin nitelikleri ve etkilerinin ortaya konulup anlaşılması, gelişimin kontrol edilebilme şansını artırır. Kraniyofasiyal gelişimi kavramak için kemiğe ait iki temel büyüme hareketinin anlaşılması ve aralarındaki farkın ortaya konulması gereklidir. Bu temel hareketlerin ilki yeniden şekillenme (*remodelling*), ikincisi ise yer değiştirmedir (*displacement*) (2,3). *Remodeling* daha çok çocukluk çağındaki büyümeyi etkilese de, erişkin yaşlarda düşük düzeyde olsa da devam eder. Kemikteki yeniden şekillenmenin anlaşılmasını sağlayan ilk çalışma 1957 yılında Fukada ve Yasuada tarafından yapılmış ve mekanik stresin yarattığı elektrik yükünün (piezoelektrik etkisi) önemi vurgulanmıştır (23). Kemiğin mekanik stres altındaki bölgelerinde elektronegatif yük oluşurken, diğer alanlarda elektropozitif yük oluşmaktadır. Kas aktivitesi, ağırlığın etkisi ve büyüme kuvvetleri kemikte *ultrastruktürel* düzeyde distorsiyon yaratır. Bunun sonucu olarak konkav ve konveks yüzeyler meydana gelir. Konkav yüzeylerde matriks kompresyonu dolayısıyla negatif yük oluşurken, konveks yüzeylerde kemik matriksinde gerilme dolayısıyla pozitif yük oluşur. Nihai sonuç olarak elektronegatif yük taşıyan alanlarda kemik depolanması oluşurken, elektropozitif yük taşıyan alanlarda kemik rezorpsiyonu gerçekleşmektedir. İkinci temel büyüme hareketi olan yerdeğiştirme, kemiğin eşzamanlı rezorpsiyonu ve depolanması ile sağlanır (24,25).

Bir kemik yapı büyürken direkt eklem yaptığı diğer kemikler de etkilenecek uyumlu bir şekilde büyüme meydana gelir. Kemik eklem seviyesinde büyürken

eşzamanlı olarak zıt yönde yer değiştirir, yani uzama meydana gelir. Bu durum büyümenin olduğu kemikler arasındaki eklem aralığının korunmasının sağlar. Büyüme alanlarının şekli ve yerleşimine bağlı olarak, yer değiştirme hareketi bazen o kemik parçasının rotasyonuna neden olabilir (26). Kemiğin büyümesi sırasında hareket yönündeki yüzeylerde kemik depolanması olurken, zıt yöndeki yüzeyler rezorbsiyon olur. Örneğin mandibula ramusu posteriora doğru hareket ederken, ramusun anterior parçası korpusda yeni kemik depolanmasıyla yeniden şekillenir (2,4,27).

2.5. Yüz Gelişimi

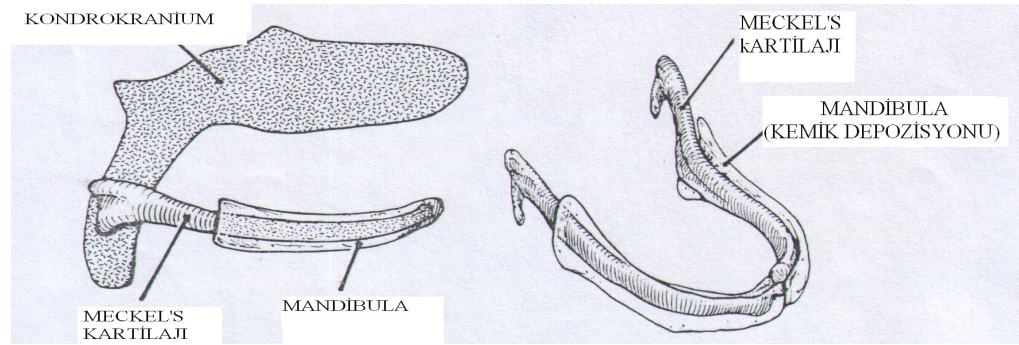
Kraniyofasiyal büyüme kemik ve yumuşak dokuların sefalokaudal ve allometrik şekilde, kompleks olarak genişleme ve farklılaşmasıdır. Bu sürece genel olarak bakıldığında, gelişimini ilk olarak tamamlayan nörokraniumun yüz gelişimini yönlendirdiği görülür. Örneğin uzun ve dar kafa tabanı yapısı, anteroposterior ve vertikal yönlerde uzamış ve mandibular retruzyon gösteren yüz tipi oluşacak şekilde gelişimin yönlenmesine neden olur. Daha geniş ve yuvarlak bir kafa tabanı ise orantılı olarak geniş fakat anteroposterior olarak kısa bir yüz konfigürasyonunun oluşmasına yol açar. Bu gelişime bakıldığında kafa tabanının yüz büyüme alanlarının şeklini ve parametrelerini belirleyen bir şablon olduğu görülür (2,3,4). Kranium bileşenleri yüze ait yapılardan daha önce olgunlaşır. Maksilla, kraniumla yakından ilişkisi olsa da, özellikle vertikal düzlemde olmak üzere bağımsız bir büyüme potansiyeline sahiptir. Mandibula ise şeklini ve pozisyonunu belirli bir dereceye kadar kondildeki büyümenin yardımı ile adapte edebilme kabiliyetine sahiptir (28).

Kraniyofasiyal genişlik ölçümlerinin göreceli olarak daha az büyüme potansiyellerine sahip oluşundan ötürü, vertikal ve anteroposterior kraniyofasiyal ölçümlerin yetişkinlere ait değerlere daha yakın olduğunu gösterilmiştir. Genişlik ölçümlerinin (maturasyon oranları, kranial genişlik %97, palatal genişlik %95, bigonial genişlik %93) kranial taban sinkondrosları ve beyin gelişiminin daha erken dönemde maturasyon süreçlerini tamamlamasıyla alakalı olduğu yönünde bir açıklama getirilmiştir. İstisna olarak bizigomatik genişliğin yüksek oranda göreceli büyüme kapasitesinin (düşük maturasyon oranından dolayı), massater kası ile olan

ilişkisinden ötürü olduğu ileri sürülmüştür. Bu nedenle massaterin boyut ve ağırlığının artışı, bizigomatik genişliğin artışına yansımaktadır (11).

2.6. Mandibula Gelişimi

Mandibula embriyonik olarak visserokraniumun en önemli parçalarından biri olan meckel kartilajından gelişir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Fetal dönemde kondrokranium ve Meckel kartilajının mandibulanın yapısını oluşturması

Mandibulanın kemikleşmesi, kranial kemik gelişiminde görülen enkondral kemikleşmede olduğu gibi kıkırdığın kemikle yer değiştirmesi şeklinde olmaz. Kıkırdak yapı bir kalıp görevi görür; kıkırdığın laterallerinde membranöz kemik depolanması olurken kıkırdak rezorbe olur, kas aktivitesi ile kemik oluşumu artar. Ancak bu oluşum paterni tüm mandibula bölgeleri için geçerli değildir. Mandibulanın kondil bölgelerinde enkondral tipte kemikleşme görülür (29).

Mandibula büyümesinde kondil, mandibibula büyüme hızının, miktarının, yönünün ve boyutlarının belirlenmesinde anahtar rol oynar. Doğumda, maksillanın alveolar parçasının olmaması ve sinüslerin henüz gelişmemiş olması nedeniyle yüz vertikal olarak kısadır. Buna uygun olarak mandibular ramus kısa ve korpusla arasındaki açı 175 derecedir. Bu dönemde yüz/kranium oranı 1/8'dir. Sonraki dönemde nazal kavitenin boyutlarındaki artış nedeni ile nazomaksiller kompleks inferior yönde yerdeğiştirir. Bu hareket mandibulayı aşağı doğru iterek ramus büyümesini hızlandırır (30). Mandibula yaşam süresince morfolojik ve boyutsal olarak önemli değişiklikler geçirir. Mandibular açı, ramus ve korpusunun

uzunluğundaki oranlardaki değişme yaş ve cinsiyete değil tamamiyle dentasyona bağlıdır. Dentasyonun tamamlanmasıyla tüm çiğneme kasları çiğneme ve öğütme fonksiyonlarına katılır, aynı şekilde massater ve temporal kas fonksiyonları dişlerin kısmi veya tam kaybı ile azalır. En belirgin morfolojik değişiklik alt çenede korpusun uzaması ile belirginleşen karakteristik *senil* çene görünümüdür. 4 ay - 68 yaş aralığında 114 birey üzerinde yapılan yaşa bağlı mandibula değişiklikleri analizinde mandibuladaki morfolojik değişikliklerin %62,3'ünün dişlerin sayısına bağlı olduğu tespit edilmiştir (31).

2.7. Kraniofasial Büyüme ve Klinik

İnsanlarda kraniofasial morfolojik farklılıkları ilk olarak 1795 yılında Blumenbach incelemiş ve tanımlayarak yayınlamıştır. Kraniofasial büyüme sürecindeki kontrol mekanizmalarının tanımlanması ile bu konu üzerinde yapılan çalışmalara ağırlık verilmiş ve kraniofasial morfolojiyi kontrol eden ve değiştiren faktörlerin her biri ayrı ayrı çalışma konusu olmuşlardır. Kraniofasial yapıların gelişim ve büyümesi Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi, Ortodonti gibi pek çok alanda çalışan araştırmacı ve klinisyenin ilgi konusu olmuş, bu sürecin aydınlatılması tanı koyma, değerlendirme ve tedavi planlama aşamalarına ışık tutmuştur. Kraniofasial analizler sonucunda fasiyal büyüme, fasiyal asimetrliler, cinsiyete ve yaşa bağlı değişimler tespit edilerek ortaya konulmuştur (32).

Kraniofasial gelişim dinamik bir süreçtir. Bu süreçte kraniofasial bölge hem boyut hem de şekil olarak değişim geçirir. Hennessy ve Moss gelişim esnasında boyut artışının sona erdiği halde biçim değişikliğinin halen devam ettiğini ortaya koymuşlardır (33).

Ferrario ve ark.'nın yaptığı çalışmada, 6 yaşından erişkinlik dönemine kadar 1348 sağlıklı bireyin fasiyal morfometrik ölçümleri yapılmış ve kraniofasial gelişim oranları ile zamanlamaları karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, her yaş grubunda lineer ölçümlerin erkeklerde kızlara oranla daha büyük olduğu tespit edilmiştir. Lineer ölçümler kızlarda, erişkin boyutlarına 12-13 yaş grubunda ulaşmaktadır. Yüz orta 1/3 gelişimi, her iki cinsiyette 13 yaşlarına kadar eşzamanlı olarak seyretse de, bu aşamadan sonra belirgin değişiklikler meydana gelir ve erkeklerde lineer oranlar

artmaya devam eder. Erkeklerde yüzün alt 1/3 bölümünde erkeklerde boyutlar her zaman kızlara oranla daha fazladır (34).

Gasson ve Lavergne (1977) kraniyofasiyal gelişim esnasında maksilla ve mandibula rotasyonun temel tiplerini incelemişlerdir. Büyüme ve rotasyon sırasında maksilla ve mandibula arasındaki uyumlu ilişki normal sınırlardaki yüz tipi çeşitliliğe yol açarken; unkoordine rotasyon sonucunda anormal şekillerde yüz gelişimleri meydana gelmektedir (35).

Kraniyofasiyal gelişim esnasında herediter ve çevresel faktörlerin rolü halen akademik ilgi ve merak konusu olmakla birlikte, bu faktörlerin neden oldukları etkiler ve bunların sonuçları arasındaki ayırımı yapabilmek halen çok güçtür. Tedavideki başarı, kişisel faktörler, anomalinin derecesi gibi nedenlere bağlı olmakla beraber; kraniyofasiyal komponentlerin gelişimi ve büyümesini kontrol eden mekanizmalar hakkında daha çok şey bildiğimiz taktirde daha iyi sonuçlar elde edebilmemiz mümkün olacaktır. Malformasyon vakalarında, etkenin bilindiği ve şüphelenildiği durumlarda, hayvan modellerindeki çalışmalar, bu vakalara yaklaşımlarda yardımcı olmaktadır. Hayvan modellerindeki bulgulardan yola çıkılarak insanlardaki anomaliler ile ilgili ihtimaller oluşturulabilir (6). Kraniyofasiyal bölgenin büyümesinin incelenmesinde elverişli ve klinik çalışmalar ile uyumlu olabilecek standart bir hayvan modeli üzerinde henüz bir fikir birliği yoktur (36). Sıçanlarda çalışmalarının avantajı kemirgenlerin hızlı büyüme oranları ve düşük maliyetleridir. Ancak bu çalışmalardan elde edilen sonuçların insanlardaki sonuçlar ile karşılaştırılabilmesi, kemirgen modelindeki büyüme sürecinin insan modelinin büyüme süreci ile benzer olması durumunda etkinlik kazanır. VandeBerg ve ark. çalışmasında, Lewis sıçanlarında kraniyofasiyal iskelet sisteminin absolut ve relatif büyüme paternleri karşılaştırılmıştır. Çalışmaya göre kemirgen modelindeki kraniyofasiyal kompleks bileşenlerinin potansiyel büyüme yanıtı, onların büyüme potansiyeli ile ilişkilidir. Teorik olarak, toplam yanıt potansiyeli, absolut (ölçülen) büyüme potansiyeli ve rölatif olgunluk potansiyellerinin bileşimidir. En büyük değişiklikler, daha immatur olan değerlerde ortaya çıkar ki, bu onların yüksek büyüme kapasitelerinin sonucudur. Ancak bu ilişki çoğunlukla farz edilen bir ilişkidir; geçerliliğinin gösterilmesi durumunda büyüme ve tepki potansiyelleri arasındaki bağıntı klinik önemine kavuşur. Örneğin, tibia boyu, vücut ağırlığı, total

orta yüz yüksekliği ve bizigomatik genişlik gibi nispi büyüme potansiyelleri yüksek ve daha düşük olgunluk oranlarında olan ölçümlerde, hormonal değişikliklere karşı yanıtlar düşük büyüme potansiyeline sahip değerlere göre daha dikkat çekici olmaktadır. Klinik uygulamalarda oldukça önem taşıyan diğer bir dikkat çekici nokta ise, maruz kalınan etkilerin sonuçları arasındaki farklılıkların uygulandığı zamana bağlı olarak değişmesidir.

Sıçanların sefalometrik grafiglerinden elde edilen kraniyofasiyal ölçümlere göre mutlak (absolut) ve nispi (relatif) büyüme oranları yorumlanmıştır. Mutlak kraniyofasiyal büyüme şeklinde lineer, quadratik ve kubik eğriler olmak üzere 3 tip büyüme paterni olduğu tespit edilmiş, her büyüme paternine göre elde edilen ölçümlerin zamanla ve büyüme hızları ile değişkenlikleri saptanmıştır. Sıçanlarda kraniyofasiyal büyüme paternlerinin çoğunluğunda (%64) lineer büyüme eğrileri elde edilmiştir. Total kafatası uzunluğu, kranium uzunluğu, total kranial taban uzunluğu, anterior kranial taban uzunluğu, posterior korpus uzunluğu, anterior korpus uzunluğu, burun uzunluğu, damak uzunluğu, damak genişliği, total mandibular uzunluk, ramus yüksekliği, oksipital kemik uzunluklarının gelişiminde lineer şekilde artan büyüme eğrileri tespit edilmiştir. Lineer şekilde artan kraniyofasiyal ölçümler arasında büyüme hızları arasında yavaş (0,11mm/hafta, damak genişliği) ve hızlı (1,69 mm/hafta, kafatası boyu) büyüme oranları saptanmıştır. Sıçanın ağırlığı ve tibia boyunu da içeren 2 somatik ölçümle birlikte, toplam 7 ölçümde quadratik polinomial büyüme paterni izlenmiş olup, (sfenoid kemik boyu, orta yüz genişliği, orta yüz yüksekliği, maksimum kranial genişlik, bizigomatik genişlik) zamanla değişik oranlarda büyüme azalmaları tespit edilmiştir. Kranial genişlik, bizigomatik genişlik ve orta yüz genişlikleri başlangıçtaki lineer büyüme fazından sonra bir plato çizdiği saptanmıştır. Quadratik büyüme gösteren ortayüz uzunluğu, total kranial taban uzunluğu ve tibia boyu ile vücut ağırlıklarının başlangıçtaki lineer büyüme hızlarının zamanla azaldığı ve hafifçe eğim kaybettiği görülmüştür. Bigonial genişlik en komplike büyüme eğrisine sahip olup, kubik polinomial bir eğri çizer ve başlangıçta lineer büyüme gösterirken bunu bir plato izler ve takiben yine bir artış dönemine girer.

Yine aynı çalışmada, kraniyofasiyal sefalometrik ölçüm verilerine göre hazırlanan göreceli büyüme eğrilerine göre, yapıların çeşitli maturasyon değerlerinde

olduğu görülmüştür. Örneğin ilk yapılan ölçümlerde vücut ağırlığının maturasyonu henüz %42 düzeyinde iken, kranial genişlik %97 oranında mature olmuştur. Tüm eğriler incelendiğinde, çoğu verinin %76-93 maturasyon oranında kümелendiği görülür. Bizogomatik genişlik dışında, tüm kraniyofasiyal genişlik ölçümlerinin %93-97 oranında matur olduğu görülmüştür. Bunu vertikal kraniyofasiyal ölçümler %77-83, tibia boyu %76, posteriror korpus boyu %65 ve vücut ağırlığı %42 oranında maturasyon dereceleri ile takip eder. Kraniyofasiyal uzunluk ölçümlerinde ise, kranial taban değerleri için yüksek maturasyon oranlarından yüz ölçümleri için düşük maturasyon oranlarına kadar değişen maturasyon yüzdeleri karşımıza çıkar. Bu grupta anterior korpus boyu %91, total mandibular boy %84 ve posterior kranium taban boyu %85 olarak tespit edilmiştir. Posterior korpus uzunluğu dışındaki tüm kraniyofasiyal ölçümlerin somatik ölçümlerden (vücut ağırlığı, tibia boyu) daha matur oranlarda olduğu saptanmıştır.

Sendromlarda Kraniyofasiyal Değişiklikler

Günümüzde teratoloji alanındaki araştırmalar doğrultusunda, doğumsal defektlerin etiyoloji ve patogenezinin bilinmesinin, bu anomalilerin önlenmesinde ve tedavisinde esas olduğu gösterilmiştir. Deformiteye yol açan doku, hücre ve daha alt seviyelerdeki bozukluğun nedenlerini anlamak, anomalilerin engellenmesine pozitif yönde bir katkıda bulunabilir. Ayrıca, patogenezin basamaklarını ortaya koymanın postnatal tedavinin planlanmasındaki bilimsel değeri ampirik girişimlerden daha fazla olacaktır.

Kraniyofasiyal kompleksin tek tek komponentleri ile ilgili yapılan çalışmalarla birlikte, anormal gelişimin sınıflandırılması ve tartışılması daha kolay olacaktır. Kraniyofasiyal malformasyonlar çok eski zamanlardan beri kayıtlara geçirilmişlerdir. Gözlemsel çalışmalar her ne kadar sendromların tanımlanmasına yardımcı olmuşlarsa da, kraniyofasiyal gelişimin bozulmasındaki nedensel mekanizmalara çok az ışık tutabilmişlerdir. Hayvan çalışmaları, kendiliğinden meydana gelmiş veya teratojenik ajanlar ile oluşturulmuş malformasyonların basamak basamak araştırılmasına izin vermiştir. Hiç şüphesiz ki, hücrelerin genomu gelişim paternini etkileyen spesifik yapılar içermektedir. Ancak, bu hücreler çevresel sinyallere de yanıt vermektedirler. İskelet gelişiminde genetik olarak daha önceden

saptanmış olan veya çevresel olarak kontrol edilebilen oranlar henüz tam olarak bilinmemektedir. Genetik ve çevresel faktörler birbiri ile etkileşim içinde olduklarından dolayı her birinin tek tek etkilerinin rolünü ayırt etmek oldukça güçtür.

En sık rastlanılan orofasiyal anomali yarık dudak damaktır. Poligenik multifaktöryel bir problem olduğu düşünülen yarık dudak damakta, bu genetik hassasiyet multiple ve kümülatif çevresel faktörlerin etkileriyle olmaktadır. Bu konuda genetik ve çevresel faktörlerin tam ve net bir dökümü yapılabilmiş değildir (6). Literatürde, opere edilmemiş yarık dudak damak anomalisine sahip bireylerde oluşan kranyiofasiyal anomaliler; maksilla ve mandibulada kısalık, posterior maksiler yükseklikte azalma, posterior maksiler genişlikte artma, bimaksiller retrognati, farengeal bölgede küçülme olarak rapor edilmiştir (37,38). Bu klinik gözlemlerin ardından yapılan deneysel çalışmalarda da kas dışındaki yumuşak dokuya yönelik cerrahi girişimlerin de kemik gelişimi üzerinde etkili oldukları gösterilmiştir. Yarık dudak damak onarımı sırasında maksiller segment üzerinde yumuşak doku disseksiyonu yapılan olgularda maksillofasiyal gelişme geriliğinin arttığı görülmüştür (39,40).

Yarık dudak damak dışında diğer baş boyun bölgesi anomalilerine bakıldığında, eşlik eden kranyiofasiyal gelişim deformitelerinin hemen hepsinde var olduğu görülmektedir. Kas gelişimiyle ilgili anomalilere baktığımızda da benzer sonuçlar görülmektedir. Örneğin *Progresif Muskuler Distorfili* hastalarda kaslardaki belirgin atrofi nedeniyle yüzün vertikal gelişiminde deformite meydana gelmektedir. Bu hastalıkta mandibula elevatör kasların gücü ortadan kalktığından ve yerçekiminin de etkisi ile daha aşağıda seviyeye yerleşmekte; maksiller büyümede deviasyon görülmektedir. Sonuç olarak yüz kasları ve çiğneme kaslarının inaktivasyonu nedeniyle, kas grupları arasındaki dengenin değişmesi ve bozulması, kranyiofasiyal morfogenezi ve oklüzyon gelişimini etkilemektedir (41).

Sternokleidomastoid kasında idiyopatik fibrozis nedeniyle meydana gelen konjenital tortikollis hastalığında baş hareketlerinde kısıtlılık ve lezyon tarafına doğru deviasyon görülür. Bu hastalarda erken çocukluk döneminde özellikle posterior kraniyal fossa olmak üzere kranium ve kraniyal tabanda deformasyon başladığı saptanmıştır. Yüz kemiklerindeki asimetri 5 yaşından itibaren belirginleşmeye, mandibular ve oklüzal anomaliler gözlenmeye başlar. Orbita ve

maksillada deviasyon ve vertikal boyutlarında azalma ile karakterize değişiklikler daha geç dönemlerde ortaya çıkarlar. Sonuç olarak tedavi edilmemiş olgularda erken dönemlerde kranium deformiteleri saptanırken çocukluk döneminde yüz morfolojisinde deformiteler belirginleşmeye başlar. Elde edilen bu veriler kasa bağlı hareket kısıtlılığının meydana getirdiği biyomekanik kuvvetlerin etkisiyle kraniyofasiyal morfolojideki değişikliklerin güzel bir örneğidir (42).

Rijit Fiksasyonun Kraniyofasiyal Kemik Büyümesine Etkileri

Kraniyofasiyal anomalilerin erken cerrahisinin avantajı normal görünüş ve fonksiyona sahip olmanın yanında ve maksimum serebral gelişimin sağlanabilmesidir. Büyüme dönemi boyunca klinik ve deneysel olarak kemik dokuya yapılan müdahaleler, kraniyofasiyal bölgenin boyut ve şeklini değiştirip azaltabilir (43). Kraniyofasiyal bölgelerin büyümede kendine özgü değişik zamanlama ve hızları, kraniyofasiyal sisteme yapılan müdahalelerin farklı alanlarda, farklı zamanlarda, farklı sonuçlar doğurabileceğinin ifadesidir. Rijit fiksasyonun yapıldığı zamanın klinik önemi, büyümenin tamamlandığı dönemde postoperatif değişikliklerin görünüş olarak dikkat çekici değil sadece sayısal analiz sonuçlarında değişiklikler olarak karşımıza gelmesi bakımından önemlidir. Kraniyomaksillofasiyal iskelet sisteminde rijit fiksasyon travmatik, rekonstrüktif ve ortognatik cerrahide sık olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu teknikler, sadece erişkinlerde değil, infant ve çocuklarda kullanılmakta olduğundan, kraniyofasiyal gelişim üzerindeki etkileri araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Yapılan birçok çalışmada rijid fiksasyon sonrası nazofrontal, premaksillomaksiller, fasiyal ve zigomatikotemporal sutur füzyonları sonucunda büyüme geriliklerinin olduğu gösterilmiştir ki; bu sonuç Watzek'in kraniyofasiyal büyüme ve gelişimin sutur hatlarından olduğu teorisini destekler biçimdedir (44).

Plak-vida ve metil-2-siyanoakrilat doku yapıştırıcısı gibi fiksasyon yöntemleri ile yapılan çalışmalarda, fiksasyon uygulanan tarafta gelişme geriliği tespit edilerek; rijit fiksasyonun kranium büyümesini azalttığını gösterilmiştir (45,46).

Araştırmacılar gelişen kraniyofasiyal iskelet sistemi üzerinde, osteotomi sonrası tel veya plak vida uygulandığında, bölgesel olarak gelişme geriliklerinin olduğunu tespit etmişleridir. 12 haftalık yavru kediler kullanılarak yapılan hayvan

modelinde osteotomi ile birlikte fiksasyon uygulanan gruplarda belirgin derecede bölgesel kraniyofasiyal gelişim gerilikleri tespit edilmişken, sadece plak vida ile fiksasyon uygulanan gruplarda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Aynı grupların opere edilmeyen bölgelerinde kontrol grubuna göre herhangi bir kompensatuar değişikliğe rastlanmamış; ancak opere edilen alan ile edilmeyen alanlar karşılaştırıldığında gerileme ve kompanzasyonun dinamik ilişkisini gösterir sonuçlar elde edilmiştir (47).

Kraniyofasiyal gelişim konusunda yapılan her girişimin zamanlama ve türüne göre farklı sonuçlara neden olabileceği tüm bu çalışmalardan çıkartılabilecek önemli bir sonuçtur (48).

Çiğneme Fonksiyonlarının Kraniyofasiyal Kemik Büyümesine Etkileri

Araştırmacılar kaslar aracılığıyla oluşan biyomekanik kuvvetlerin kemik gelişimi üzerindeki etkilerini detaylı olarak incelemişlerdir. Deneysel ve klinik çalışmalarda yüz kaslarında myotomi, myektomi, transpozisyon, denervasyon gibi çeşitli metotlar ve çiğneme fonksiyonlarının değiştirilmesi aracılığıyla kraniyofasiyal morfolojik değişiklikleri ortaya konulmuştur. Çalışmamızda botulinum toksini tip A ile massater ve temporalis kasları olmak üzere major çiğneme kaslarına kemodenervasyon yapılarak kraniyofasiyal morfolojik değişiklikler araştırılmıştır.

Kemik ve kartilaj dokularının farklılaşma ve büyümesinde mekanik stimulusların etkin olabildiği gösterilmiştir (49,50,51). Bu mekanik stimuluslar sadece embriyo veya fetusun dışarıdan maruz kaldığı kuvvetler değildir; farklı dokuların gelişimleri ve gelişen kasların kontraksiyonları ile meydana gelen internal etkiler sonucunda da oluşmaktadırlar (52,53). Muskular disgenesis (mdg) tüm iskelet kaslarının dejenerasyonu ile seyreden, otozomal resesif lethal genetik bir mutasyondur. Mdg sıçanlarda tüm kas kuvvetleri yok olarak farzedilir. Mutant farelerde mandibulanın sekonder kartilajlarındaki volüm azalmasının en dikkat çekici değişiklik olduğu rapor edilmiştir. Kartilajların genişliğindeki azalma boydaki azalmasından daha fazla olmuştur. Bu değişikliğin kas kuvvetlerinin etkisinin yokluğunun sonucu olan mekanik stimulus eksikliğinden ileri geldiği belirtilmiştir (54). 1970 yılında Hall, kondrogenezisin internal ve eksternal basınçlar sonucu ortaya çıktığını ileri sürmüştür. Kartilaj dokusunun basınç-dirençli bir doku olduğu

görüştünden yola çıkarak, artmış basıncın daha fazla kartilaj doku oluşumuna neden olduğunu savunmuştur (55). van Limborgh'un kartilaj oluşumunun önceden belirlenmiş bir şekil ve hızda olduğu görüşü (22) böylelikle değişmiş ve modifiye edilebileceği gösterilmiştir. Ancak kartilaj oluşumu belirli bir basınç değişikliğine artarak cevap verirken, daha artmış veya azalmış basınçlar altında gelişim durduğu ya da azaldığı tespit edilmiştir (56, 57).

Kas ve kemik *remodellingi* arasındaki ilişki sadece kasın kemik yapıya yapışmasına bağlı değildir. Kas aktivitesindeki değişim, biyomekanik kuvvetleri değiştirerek kraniyofasiyal yapı içindeki kıkırdak, kemik ve dental yapılara dağılan yükü belirlemekte ve *remodellingi* etkilemektedir. Diyetin özelliklerine bağlı olarak çiğneme aktivitelerindeki değişimin kraniyofasiyal kemik gelişimi ile olan ilişkisi bir çok çalışmaya konu olmuştur. Sert diyet ile beslenme süresi uzadıkça maksiller arkta daralma görülmüş, bu durumun maksillanın mediolateral büyümesi sürecinde kas stimülasyonu ile meydana geldiği gösterilmiştir. Bu çalışmada, normal kas fonksiyonlarının mandibulanın ortalama bir büyüklüğe erişebilmesi için gerekli iken, birbirleriyle sıkı eklem yapan kemiklerden oluşan orta yüz bölgesinin büyümesindeki etkisinin daha az olduğunu ifade edilmiştir. Diyetin fiziksel özelliklerinin, sadece çene gelişiminde değil, aynı zamanda longitudinal kraniyofasiyal gelişim oranları üzerinde de etkili olduğu gösterilmiştir (58,59).

Sıçanlarda yapılan çalışmada, sertlik derecesi farklı aynı tür diyet ile beslenen hayvanlarda kasın yapıştığı lokal kemik bölgesinde değişiklikler meydana geldiği ve yumuşak diyet ile beslenen sıçanlarda kemik kütlesinde genel bir azalma olduğu rapor edilmiştir (60). Yumuşak diyet ile beslenen sıçanlarda çiğneme kaslarında küçülme, molar diş gelişiminin gerilemesi veya olmaması, mandibula boyutlarının küçük ve kondil dansitesinin düşük olması, maksiller dental ark genişliğinde azalma, kraniyum boyutlarında küçülme saptanmıştır (58-61). Çiğneme kaslarının fonksiyonlarındaki değişiklikler mandibulanın sagittal ve transversal planda büyümesini etkilemektedir. Kondil ve molarlara binen yükte ve mandibulanın diğer bölgelerinde meydana gelen bükme kuvvetlerindeki düşme osteosit ağı ve osteoblastlar üzerindeki stimülasyonun azalmasına, dolayısıyla trabeküler ve kortikal kemik oluşumunun zayıflamasına yol açmaktadır (62-64).

Mandibula ve kranium ile temporalis kası arasındaki ilişki, koronoid prosesin morfolojisini etkilemektedir. Normal oklüzyon ve klas 2 ve 3 maloklüzyonlu hastalarda yapılan sefalogram analizlerinde, sağ ve sol frontotemporal hat ile koronoid proses arasındaki açı ölçüldüğünde; klas 3 maloklüzyonlu hastalarda koronoid proses açısının belirgin derecede arttığı görülmüştür. Bu sonuçtan yola çıkılarak, temporalis kas fonksiyonlarındaki adaptif değişikliklerin, mandibular morfolojideki çeşitliliğe neden olabileceği belirtilmiştir (65).

Farklı metodlar ile temporal kas fonksiyonlarının etkilerinin ortadan kaldırıldığı çalışmalarda ağırlıklı olarak kraniyal ve mandibular değişiklikler olduğu bildirilmiştir. Sıçan modelinde, bilateral massater, temporal ve suprahoid kas rezeksiyonu yapılması sonucunda yüzün anterior (maksiller ve mandibular alveolar çıkıntı) ve posterior kısmında (mandibulanın kondil, koronoid ve ramus kısımları) büyüme değişiklikleri kaydedilmiştir. Massater ve temporal kas rezeksiyonunun suprahoid rezeksiyona göre mandibula büyüme ve şeklini daha fazla etkilediği ortaya konulmuştur (66).

Temporal kas rezeksiyonu, transpozisyonu ve elevasyonu yapılmak suretiyle gerçekleştirilen çalışmalarda, koronoid çıkıntı boyutlarında dikkat çekici bir oranda azalma olduğunu tespit etmişlerdir (47,67,68). Temporal kas fonksiyonunun kalıcı olarak kaldırıldığı grupta kraniyofasiyal morfolojik değişimler daha belirginken, geçici olarak kaldırıldığı grupta daha hafif şekilde gözlenmiştir (69).

Massater kas fonksiyonlarının yüz kemiklerinin gelişimi üzerindeki etkisini inceleyen ilk çalışma Horowitz ve Saphiro tarafından yapılmıştır (70). Masseter kas rezeksiyonu ve diğer yöntemler ile kas fonksiyonunun değiştirilmesine dayanan çalışmaların sonucunda kraniyofasiyal bölgede her yönde gelişim geriliği saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda en çok etkilenen yapıların kasla direkt ilişkisi olan zigomatik ark ve mandibula olduğu ortaya konulmuştur. Osteometrik ve sefalometrik ölçümlere dayanılarak yapılan ölçümlerde mandibula uzunluğu ve yüksekliğinin azaldığı gösterilmiştir (66,71,72,73).

Kasın kemik gelişimi üzerindeki etkisinin biyomekanik gücüne bağlı olduğu göz önüne alındığında kranium ve mandibula arasında yerleşim gösteren temporal ve masseter kaslarının fonksiyonlarının değişmesi ve ortadan kalkmasıyla kemik gelişiminde meydana gelen değişiklikler şaşırtıcı olmamaktadır. Bu literatür bilgileri

ışığında, çalışmamızda fonksiyonları değiştirilecek kas grupları masseter ve temporal kaslar olarak planlandı.

Denervasyonun kemik gelişimi üzerindeki etkileri, kraniyofasiyal kemiklerde olduğu gibi vücudun diğer kemik yapılarında da gösterilmiştir. Deneysel olarak brakial pleksus hasarı yapılmış sıçanlarda, humerus kütle ve boyutlarında değişiklikler saptanmıştır. Bu sonuçlar ışığında, kas kuvvetlerinin azalmasıyla, periostun gerginlik derecesindeki azalmanın, kemik büyüme ve şekillenmesinde azalmaya neden olduğu görülmektedir (74).

İnsan yüz kaslarının normal yapısı, çizgili kasların bilinen yapısından farklı bir özellik göstermez. Denerve kaslarda ultrastruktürel yapısal bozukluklar, kontraktıl elemanların sayısında azalma, kas lifi boyutlarındaki azalmada, kısmi olarak dejenerasyona uğramış lifler görülür (75). Denerve kas liflerinde dejenerasyon ve rejenerasyon birbirini takip eden bir reaksiyonlar zinciridir. Ancak rejenerasyon olan kas hücreleri sinir regülasyonunun eksikliği nedeniyle tam olarak gelişemez ve olgunlaşamazlar; denervasyonun ilerlemesiyle birlikte onlarda da dejenerasyon başlar (76). Monoklonal antikorlar kullanılarak yapılan immunohistokimyasal boyamada kaslarda hızlı (Tip I) ve yavaş (Tip IIA, Tip IIB, Tip IIX) lifler olmak üzere başlıca iki lif tipi tespit edilmiştir. Denervasyon sonucunda kaslardaki Tip IIB ve Tip IIX lif oranlarında azalma, Tip IIA ve Tip I liflerinin oranlarında artış meydana gelir (77). Denervasyon sonucu gelişen masseter kası dejenerasyonunda Tip I liflerinde azalma, Tip IIA ve Tip IIB liflerinin oranında artış, kas liflerinin organizasyonunda bozulma ve kas fibril çaplarında azalma tespit edilir. Masseter kasının denerve edilmesi sonrasında mandibula inferiorunda ve periosteal yapılaşma bölgesinde kemik oluşumunun azaldığı rapor edilmiştir. Histopatolojik incelemeler sonucunda, masseter kas fonksiyonundaki değişikliklerin osteoblastların ve fibrokartilaj hücrelerinin proliferasyon ve farklılaşması üzerinde etkili oldukları saptanmıştır (78).

Orofasiyal kasların denervasyonu yada çıkarılması ile oluşturulan değişik modellerde kraniyofasiyal büyüme ve gelişim incelenmiştir. Washburn yavru sıçanlarda, fasiyal sinir rezeksiyonu yaparak yüz kaslarının mekanik etkisini ortadan kaldırmış ve kraniyofasiyal kemik gelişimini incelemiştir. Bu sıçanlarda, nazal ve premaksiller kemiklerin lezyonun karşı tarafına doğru deviasyonu ve infraorbital

bölgede kemik kaybı kaydedilmiştir. Bu değişimin yüz kaslarının mekanik etkisinin ortadan kalkması sonucu olduğunu ileri sürülmüştür (79). Jarabak ve ark. 1949 yılında benzer bir çalışma ile elde ettiği sonuçları rapor etmiştir (80). Sinsel ve arkadaşları fasiyal paraliziden sonra meydana gelen büyüme değişikliklerinin biyomekanik kuvvet dengelerinin değişimi nedeniyle olduğu ve kas ablasyonları ile yapılan çalışmalardan elde edilen veriler ile paralel sonuçlar gösterdiği saptanmıştır (81).

Sıçanların fasiyal kas yapısına bakıldığında, nazolabial, dilatatör nazi, maksillonazalis ve bukanazolabial kasların infraorbital bölgeye yapıştığı görülür. Fasiyal sinir rezeksiyonu sonucu görülen infraorbital bölge kemik kütleindeki azalmanın, kaslardaki fonksiyon kaybına bağlı olduğunu işaret etmektedir (82).

Tek taraflı fonksiyon sonucunda yüz gelişimdeki değişiklikleri incelemek üzere Bukovic ve ark. tek taraflı mandibular sinir nörektomisi, nostril sirkumventiasyonu ve enükleasyon modelleri üzerinde incelemeler yapmışlardır. Kranyiofasiyal değişiklikler orta yüz yapılarında belirgin olmak üzere kemik büyümesinde azalma olarak tespit edilmiştir (83). Bir başka çalışmada, 21 günlük sıçanlarda bilateral inferior alveolar sinir nörotomisi yapılması sonucu, mandibuladaki morfolojik değişiklikler izlenmiş, koronoid prosesde uzama, incelmeye ve açılma, antegonial çentiklenme, mandibula uzunluğunda azalma, mandibula ramus ve korpus yüksekliklerinde azalma tespit edilmiştir (84).

Kaslara ve sinirlere yönelik girişimsel çalışmalarda lokal duyu kaybı, dokuda skar oluşması, dolaşımın bozulması gibi cerrahi girişimlere bağlı etkilerin de kemik gelişimini bozarak kranyiofasiyal büyüme sonuçlarını etkileyebileceği öne sürülmüştür (85). Yumuşak dokuya ait lokal faktörlerin etkilerini gidermek amacıyla santral sinir sisteminde motor nükleus düzeyinde lezyon oluşturarak kas gücünün ortadan kaldırıldığı çalışmalar planlanmıştır. Byrd tarafından fasiyal ve trigeminal sinir motor nükleusunda elektrolitik lezyon yaratılarak kranyiofasiyal morfolojik değişiklikler kaydedilmiştir. Lezyon tarafında yüz ve çiğneme kaslarında atrofi, zigomatik arkta asimetri, maloklüzyon, hemimandibular hipoplazi ve kondil boyutlarında azalma ortaya konmuştur (86). Behrents ise sadece trigeminal motor nüklusu etkileyecek elektrolitik bir lezyon yaratarak, lezyon tarafındaki kasların yapıştığı tüm fasiyal yapılarda, özellikle burun, zigomatik ark, angulus, koronoid

çıkıntı, kondil çapı ve basikraniyumda belirgin gelişme geriliği kaydetmiştir. Sonuç olarak lezyon oluşturulan tarafta hemifasiyal hipoplaziye benzer bir tablo meydana gelmiştir (87).

Kranyiofasiyal gelişme üzerinde yapılan çalışmalarda kas ile ilgili kullanılan yöntemler kasların fonksiyonunun ortadan kaldırılmasıyla kalmamış, kas transpozisyon yöntemleri ile vektörlerin değiştirilmesinin büyüme üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Schottstaedt'nin 1955 yılında paralizi nedeniyle yitirilen kas fonksiyonlarının yeniden sağlanması amacıyla kas transpozisyonlarını tanımlamasından sonra Hamacher ve Dingman sternokleidomastoid kasını masseter kas fonksiyonu göreceği şekilde transpoze etmişlerdir (88,89,90).

Takip eden çalışmalarda masseter ve temporal kas transpozisyonları üzerinde durulmuş, mandibula ve kranyiofasiyal gelişimde meydana gelen değişiklikler araştırılmıştır. Hohl çalışmasında temporal kası koronoid proseten ayırarak kondil posterioruna, masseter kasını ise normal yapışma yerinden ayırarak daha geriye taşımıştır; bu değişikliklerin sonucu sefalometrik analizlerde mandibula ve orta yüz bölgesinin superior ve anterior yönde rotasyona uğradığı gösterilmiştir. Değişen oklüzyonun adaptasyonu amaçlı mandibular insisörler daha dik ve yüksek hale gelirken, maksiller insisörlerde labial açılma gelişmiştir (71). Ayrıca masseterin repozisyonu sonucunda mandibula boyutlarında azalma, gonion açısında genişleme görülmüştür (91).

Kas rezeksiyonları, transpozisyonları ve myotomiler sonrasında kranyiofasiyal bölgedeki geri kalan kas grupları arasında dengenin değişmesi sonucunda oluşan artan iş yüküne rağmen bu kaslarda belirgin bir hipertrofi görülmediği bulunmuştur (92,93). Masseter kas rezeksiyonu yapılan çalışmada Guelinckx, rezeksiyon sonrasında temporal kas morfolojisini incelemiştir. Temporal kas normal şartlar altında hızlı kasılan ve oksidatif enzim kapasitesi düşük liflerden oluşurken, masseter rezeksiyonu sonrasında Tip IIA fibrillerinin (yorgunluğa dayanıklı) sayısında ve oksidatif kapasitesinde artış olduğu bulunmuştur (92).

Yumuşak Doku Girişimlerinin Kranyiofasiyal Kemik Büyümesine Etkileri

Yukarıda sayılan faktörlerin yanında, kaslar dışındaki yumuşak dokuların ve bunlara yönelik cerrahi girişimlerin kranyiofasiyal morfoloji üzerindeki etkileri de

üzerinde durulan konulardan biri olmuştur. Bu konu özellikle yarı damak dudak deformitesi gibi hayatın erken dönemlerinde cerrahi tedavi gerektiren konjenital anomalilerin takipleri sırasında yüz kemik gelişimindeki anormalliklerin dikkat çekmesiyle araştırılmaya başlanmıştır. Dudak yarığı olan hastaların onarımdan sonraki uzun süreli takiplerinde, kranyiofasial kemik gelişimin, maksiller boyut ölçümleri ve büyüme hızları başta olmak üzere, normal bireylere oranla daha geri olduğu saptanmıştır (94-97). Elbette anomaliye neden olan genetik ve çevresel faktörlerin de kranyiofasial gelişimdeki sorunlara katkısı kuşkusuzdur, ancak yumuşak doku müdahalelerinin kranyiofasial gelişim üzerindeki etkileri deneysel ve klinik birçok çalışmada gösterilmiştir. Periosteum elevasyonu sonucu kalvaryum beslenmesinin hasara uğraması gelişen kemik dokusunun beslenmesini bozduğundan, kranyiofasial gelişim gerilikleri meydana gelmektedir. Bardach, deneysel çalışmalarında yarı damak onarımı esnasında yapılan yumuşak doku disseksiyonunun skar ve kontraktür oluşumu sebebiyle ortayüz gelişiminde baskılanma meydana getirdiğini rapor etmiştir (39,40,98).

2.8. Kemodenervasyon Ajanları

Literatürde deneysel olarak kemodenervasyon meydana getirmek amacıyla değişik ajanlar kullanıldığı görülmektedir. Bunlar başlıca fenol, doxorubicin, vincristine, botulinum toksin, Doxil ve ricin mab35'tir (99-102).

Yaygın olarak kullanılması nedeniyle enjeksiyon parametrelerinin tanımlanmış olması, yakın ve uzun dönem etkilerinin bilinmesi, dozaj aralıklarının saptanmasıyla etkinliğinin artarak yan etkilerinin aynı oranda azalmasını sağlanabilmesi ve literatürde kranyiofasial morfoloji ile ilgili çalışmalarda hiç kullanılmamış olmasından ötürü kemodenervasyon ajanı olarak Botulinum Toksin Tip A'yı tercih ettik (103).

Botulinum Toksini

Botulinum nörotoksini, gram-negatif anaerobik bir bakteri olan *Clostridium botulinum* tarafından üretilir. A,B,C1,C2,D,E,F ve G olmak üzere serolojik alt grupları bulunmaktadır. Bunlardan A,B,E ve nadir olarak F ve G insanda görülen *botulism* hastalığı ile alakalıdır. *Botulism*, botulinum toksininin neden olduğu

bilateral, simetrik, inen tarzda nöroparalitik bir hastalıktır. Alman doktor Justinus Kerner 1817-1822 yıllarında besin zehirlenmesine bağlı botulismın klinik semptomlarını ilk olarak tanımlamıştır. 1795-1813 yılları arasında Stuttgart'ta savaş sırasında girilen ekonomik darboğaz ve besin üretimindeki hijyen koşullarının bozulması sebebiyle artan besin zehirlenmeleri dikkatleri bu klinik tabloya çekmiştir. Bu hastalık o dönemde *sausage poisoning* / sosis zehirlenmesi olarak adlandırılmış olup, botulism sosisin Latince karşılığı olarak *botulus* dan köken almaktadır. 1895 de mikrobiyolojist Emile-Pierre van Ermengen bir botulism salgını esnasında anaerobik bir bakteri keşfetmiş ve botulism ile ilişkilendirmiştir. Bozulmuş yemeklerin yenilmesiyle nörotoksin alınmış olur ve sindirim sisteminden absorbe edildikten sonra hematojen olarak yayılır. Nörotoksin ısıtılıp pişirilmekle denatüre olur. İnkubasyon periyodu 18-36 saattir. Botulinum toksini çinko bağlı endopeptidazdan yapılmış, disülfid bağları ile bağlanmış 50 kilodalton hafif zincir ve 100 kDa ağır zincirden oluşmaktadır.

İnfant botulismi, barsakta kolonize olan *C.botulinum*un toksin üretimi ve absorpsiyonu ile meydana gelen bir rahatsızlıktır. Clostridial sporlar -çoğunlukla tip B- özellikle bal ve ürünlerinde tanımlanmış olup, infant botulismi yapan etken olarak gösterilmiştir. Yara botulismi ise, organizmanın bir yarayı enfekte ederek toksin üretiminin sonucu olarak meydana gelir. Botulism kliniğinde, sıklıkla ekstrokuler veya farengeal kaslardan başlayan ve generalize hale dönüşen ilereyici kas zayıflığı görülür. Gastrointestinal sistem şikayetleri daha belirgindir. Sıklıkla dilate ve reaksiyon vermeyen pupiller görülür, müköz membranlar kuru ve eritemlidir (104-107) .

1946 yılında Schantz, botulinum toksin tip A yı kristalin formunda izole etmiştir. 1970 li yılların başlarında Scott, botulinum toksin tip A ile maymunlarda strabismus tedavisini gerçekleştirmiştir (105,106). 1976 yılında Pestronk sinir fizyolojisi ile ilgili olarak, memeli iskelet kasında asetilkolin reseptörlerinin dağılımının motor sinirlerin aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynadığını belirtmiştir. İnnerve kaslarda, asetilkolin (Ach) reseptörlerinin nöromuskuler bileşkede lokalize olduğunun gösterilmesiyle botulinum toksinin fizyolojik etki mekanizmaları aydınlanmış ve botulinum toksininin Ach salınımını vezikül düzeyinde, sinir terminallerinde bloke ederek, sinir uyarımı ile kas aktivitesini

engellediği gösterilmiştir (108). Nöromusküler bileşkedeki nörotransmisyon, presinaptik sinir uçlarından ach salınımını, bu da presinaptik membrana nörotransmitter veziküllerinin bağlanmasını gerektirir. Değişik proteinler bu sürecin işlemlerini sağlamaktadır. Sitoplazmik bir protein olan *N-ethylmaleimide-sensitive fusion* proteini (NSF) füzyon kompleksinin bir parçası olarak görev alır. Çözünebilen *N-ethylmaleimide-sensitive fusion-attachment* proteinleri (SNAPs) yine stoplazmada bulunan NSF kompleksinin bağlanması ve stabilize edilmesi için gereklidir. SNAP reseptörleri (SNAREs) vezikül ve plazma membranları üzerinde bulunurlar. SNAREs, *vesicle-associated membrane protein* (VAMP/synaptobrevin), plazma proteinleri SNAP-25 ve syntaxin içerir.

Botulinum toksini etki mekanizması:

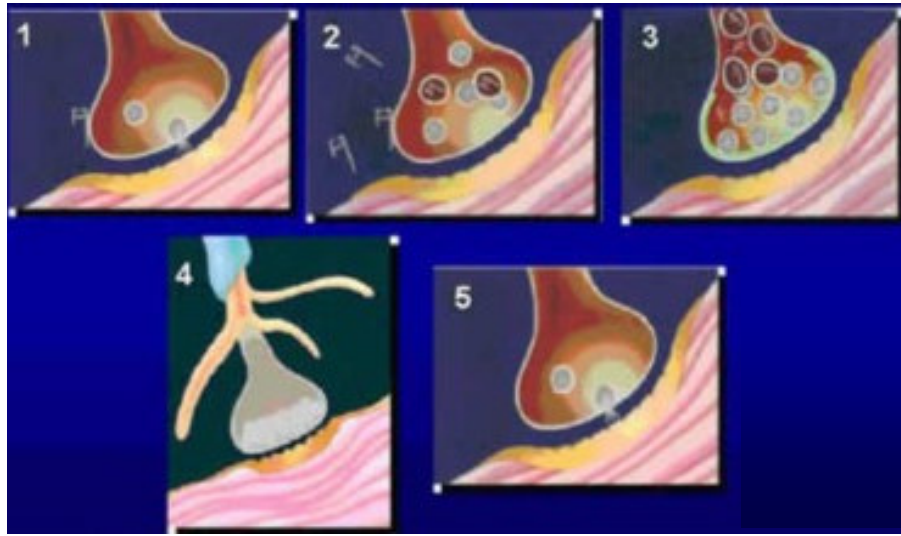
1. İlk basamak toksinin ağır zincirin C-terminalindeki yarısı ile presinaptik hücredeki spesifik reseptöre bağlanmasıdır. Bu basamak 30 dakika içinde gerçekleşir.

2. İnternalizasyon olan ikinci basamak, enerji bağımlı, reseptör aracılıklı gerçekleşen endositik sürecin başlangıcıdır. Toksin-reseptör kompleksi sinir hücresinin plazma membranından invaginasyonla girer, böylelikle sinir terminallerinde toksin içeren veziküller oluşur.

3. Üçüncü basamak translokasyon aşamasıdır. İnternalizasyondan sonra disülfid bağları ayrılır, toksinin hafif zinciri endosomal membranı geçerek sinir stoplazmasına geçer.

4. Son aşama blokajdır. A ve E serotiplerinin hafif zinciri asetil kolin salınımını sinir terminallerinin plazma membranının iç kısmındaki asetil kolin veziküllerini, stoplazmik protein (SNAP-25) yarılmalarıyla inhibe eder. Tip D, VAMP/sinaotobrevin protein kompleksi için spesifiktir. Tip B ve F serotipleri de VAMP/sinaotobrevin protein kompleksi için spesifiktir. Botulinum toksin enjeksiyonlarının klinik etkisi 2-6 ay içinde sonlanır. Kimyasal denervasyon başlamasıyla akson terminallerinde yeni myelinsiz sinir filizleri oluşur, motor endplate bölgesi genişler. Birkaç ay sonra, inaktive terminallerde yavaşça fonksiyonlarda geri dönüş meydana gelir. Motor endplate ve yeni filizlenen liflerde gerileme olur (şekil 2.2). İnaktive terminallerde fonksiyonların geri dönüşü, klinik olarak etkilerin sonlanmasının temelidir (105,108).

Tip A ve B, distoni tedavisinde yapılan çiftkör çalışmalarda kullanımı en etkili ve güvenilir serotipler olarak belirlenmiştir. Aralık 1989da botulinum toksin tip A, Amerika’da BOTOX®, Avrupa’da *DYSPORT* isimleriyle, strabismus, blefarospazm, hemifasiyal spazm, ve servikal distoninin tedavisinde kullanıma girmiş, BOTOX® FDA (*US food and drug administration*) onayı almıştır. Botulinum toksin tip B, aralık 2000 de Amerika’da *Myobloc* (FDA onaylı), Avrupa’da ise *Neurobloc* isimleriyle servikal distoni tedavisinde kullanıma sunulmuştur (106,109). Botulinum toksininin kullanım alanları çok çeşitlilik gösterir; strabismus, hemifasiyal spazm, fokal distoniler, spastisiteler, tremor, tikler, sinkinesis, hiperhidrosis, akalazya ve sfinkter disfonksiyonlarının yanında son zamanlarda başağrıları ve ağrı sendromlarında da uygulamalara başlanmıştır (110,111).



Şekil 2.2. Botulinum toksini etki mekanizmasının şematizasyonu 1) Reseptöre bağlanma, 2) İnternalizasyon, 3) Translokasyon ve blokaj, 4) Yeni liflerin filizlenmesi, 5) İnaktive sinir terminalinde fonksiyonların geri dönüşü

Botulinum Toksin Enjeksiyonunun Kontrendikasyonları

Daha önce alerjik reaksiyon hikayesi olan kimseler, enjeksiyon bölgesinde enfeksiyon olması, gebelik ve emzirme kesin kontrendikasyonlarıdır. Botulinum Toksinin teratojenitesi hakkında kesin bir bilgi yoktur. Ancak C kategorisinde bir

ajan olarak kabul edilmektedir. Rölatif kontrendikasyonlarına gelince, Myastenia gravis gibi nöromuskuler bileşke hastalıklarına sahip kimselerde botulinum toksin enjeksiyonu sonucunda kas zayıflığı daha abartılı bir şekilde ortaya çıkabilir. Aminoglikozitler, penisilamin, kinin ve kalsiyum kanal blokörleri gibi ilaçlar, nöromuskuler bile kedeki transmisyonu azalttıklarından, BOTOX  enjeksiyonlarından kaçınılmalıdır. Yapılan tek lif EMG çalışmalarında toksin uygulanan bölgeye uzak alanlarda da nöromuskuler ileti de i kliklerinin meydana geldiği gösterilmiştir. Bu Botulinum toksininin az bir miktarının hematojen yolla dağıldığını düşündürmektedir. Botulinum toksininin intravasküler enjeksiyonu konusunda çok dikkatli davranmak ve bundan kaçınmak gerekir ki aksi durum hastada *botulismus* kliniğinin görülmesine neden olabilir (109).

Botulinum Toksin Enjeksiyonunun Komplikasyonları

Botulinum toksin kullanım endikasyon alanlarının artışı, kuşkusuz yan etkilerinin görülme insidansını da arttırmıştır. Bu nedenle, enjeksiyon parametrelerinin tanımlanması etkinliğinin artarak yan etkilerinin aynı oranda azalmasını sa layabilmi tir. Botulinum toksinin yan etkilerini yakın ve uzun dönem etkiler olarak kategorize edebiliriz. Hemen ortaya çıkan yan etkileri, ilacın lokal yayılımına bağlı komşu kasların felci olarak ortaya çıkar (103). Jeneralize idiosenkronik reaksiyonlar oldukça nadir görülen bir durumdur; bulantı, bitkinlik, enjeksiyona uzak bölgede isilik tarzı döküntüler, grip benzeri semptomlar olabilir. Perkütan enjeksiyonların istenmeyen sonucu olarak, ağrı,  dem, ekimoz, ba a rısı, hiperestezi olabilir. Bu gibi yan etkiler genellikle hafif ve geçici reaksiyonlardır. En önemli yan etkisi istenmeyen kas g  s zl  d r. Uygulanan bölge, enjeksiyon miktarı, kasın güçsüzlük durumuna göre bu gibi semptomlar birkaç hafta ile birkaç ay içerisinde geçer (103,107).

Botulinum Toksin Yapısı, Hazırlama ve Saklama Koşulları

Botulinum toksin tip A, BOTOX  piyasa ismi ile Allergan firmasının üretimi olup, ülkemize Abdi  brahim ilaç pazarlama A . tarafından getirilmektedir. Sa la tırılmı  toz halindeki nörotoksin kompleksi 100 IU botulinum toksin tip A içeren flakonlar halinde ambalajlanmı tır. BOTOX  dondurucuda veya -5 derecenin

altında saklanır. Serum fizyolojik ile sulandırılarak kullanıma hazır hale getirilir. Bazı otoriteler mikrobiyal kontaminasyonu engellemek ve anestezik etkisinden faydalanmak amacıyla steril salin solüsyonuna %0.9 benzil alkol eklenerek sulandırılmasını önermektedir. Kontaminasyon çok olası bir problem olmamakla birlikte, benzil alkolün anestezik etkiside orta derecededir. BOTOX® sulandırılırken çalkalanıp köpürdüğünde denatüre hale geçtiğinden, oldukça dikkatli ve nazıkçe serum fizyolojik solüsyonu flakon iç duvarına doğru verilmelidir. Sulandırılmış bir flakon BOTOX® 100 IU içerir ve bir kişiye uygulama için yeterli gelir. BOTOX® 1 ila 10 ml serum fizyolojik ile dilüe edilerek kullanılır. Buna göre 2 ml serum fizyolojik ile dilüe edilen BOTOX®un 0,1 ml de 5 IU toksin bulunmaktadır. 30 gauge 1 inch boyutlarındaki iğneye sahip insülin enjektörü ile uygulama yapılır. Dilüe edilerek hazırlanan BOTOX® 2-8°C de buzdolabında 4 saat aktivitesini koruyarak saklanabilir. Literatürde 6 saate kadar aktivitesini kaybetmediği, 12 saat sonunda aktivitesinde %44 kayıp olduğu, 1-2 haftada aktivitesinin %70 ini kaybettiği bildirilmiştir (112).

1 IU BOTOX®, bir grup 18-22 gr Swiss Webster sıçanına intraperitoneal olarak enjekte edildiğinde %50 sinin ölümüne neden olan doz (LD50) olarak tespit edilmiştir. İnsanlarda letal doz BOTOX® için yaklaşık 3000 IU'dur. BOTOX® enjeksiyonları kozmetik amaçlı 100 IU den az olarak kullanılmakta olup, diğer kullanım alanlarında 300-600 IU kullanılabilir. Literatürde yapılan çalışmalarda, botulinum toksininin biyolojik aktivitesini değerlendirmek kullanılan LD50, lokal intramuskuler farmakolojik etkileri gözlemlmek açısından uygun olmamıştır. BOTOX® klinik uygulamalarda, letal dozdan çok daha düşük bir doz aralığında lokalize kas denervasyonu etkisi amacıyla intramuskuler enjeksiyonlar tarzında kullanılmaktadır. Klinik sonuçların elde edilmesi, kas zayıflığını yaratan etkili dozun uygulanmasını gerektirmektedir. Bu amaçla Aoki ve ark.'nın sıçanlarda yaptığı çalışmada, değişen dozlarda intramuskuler olarak gastrocnemius kasına uygulanan botulinum toksininin, lokal ve sistemik olarak kaslardaki doza ve zamana bağımlı farmakolojik etkileri gösterilmiştir. Çalışmada sistemik etkilere neden olan dozlardan daha düşük miktarlardaki toksin uygulamalarında lokal kas etkilerinin gözlemlendiği saptanmıştır. 30 IU/kg olarak uygulanan dozlarda, letarji, sistemik kas zayıflığı bulguları ile ön plana çıkan sistemik etkilerin başladığı tespit edilmiştir. Lokal ve

sistemik kas etkileri bakımından 30 IU/kg doz miktarı ayırım noktası olmuştur. Teorik olarak 20 gr'lık bir sıçanda, 50 IU/kg ve üzeri dozların, sistemik etki ile solunum kaslarının (diafram ve interkostal) paralizisini ortaya çıkararak, sıçanın ölümüne neden olan letal doz olduğu bilinmektedir (113,114).

Çiğneme Kasları ve Botulinum Toksini Üzerine Yapılmış Literatür Çalışmaları

Literatürde masseter ve temporal kas hipertrofisi nedeniyle botulinum toksin enjeksiyon uygulamalarının yapıldığı görülmektedir (115-119). Botulinum toksininin uygulandığı alanlarda, kasın atrofisini takiben geçici bir kas zayıflığı ve lokal paralizi etkisi yarattığı gösterilmiştir (115). Ayrıca, çene kaslarında sadece geçici motor paralizi yaratmadığı, ek olarak refleks kas tonusunu da azalttığı tespit edilmiştir (120). Botulinum toksin uygulamalarından 3 ay sonra yapılan incelemelerde kas kütlelerinde %31 oranında azalma olduğu saptanmıştır (118,121). Yapılan elektromyografik takiplerde masseter ve temporalis kaslarının 3. ve 8. haftalar arasında belirgin derecede atrofik ve fonksiyonel olarak inaktif oldukları kaydedilmiştir (119).

Son zamanlarda botulinum toksini çene fonksiyonlarını düzenlemede ve temporomandibular eklem (TME) rahatsızlıklarının tedavisinde kullanıma girmiştir. TME rahatsızlıklarında temporalis, masseter, medial ve lateral pterigoid kaslara enjeksiyonlar yapılmaktadır. Çiğneme kaslarına yapılan botulinum enjeksiyonu sonucunda, TME rahatsızlıklarına bağlı patolojik fonksiyonel değişikliklerde düzelme, interinsizal ağız açıklığında artış meydana geldiği ortaya konulmuştur (122-124). Tekrarlayan TME dislokasyonlarında da botulinum toksini Tip A ile kemodenervasyon sonucunda, anormal eklem yapısı ve kas fonksiyonlarına bağlı tekrarlayan dislokasyon patolojisinin bir daha görülmediği saptanmıştır. Ancak kalıcı etki için tekrarlayan dozajlarda ve belirli zaman aralıklarında yapılmasının gerekliliği öngörülmüştür (125).

Kim ve ark., estetik mandibular kontürü sağlamak amacıyla masseter kasına botulinum toksini uygulamışlardır. Beyaz ırka göre alt 1/3 yüz yapısı daha geniş olan Asyalı ırka ait bireylerde masseter kasına botulinum toksini enjeksiyonu yapılmış, masseterde ortaya çıkan atrofi sonucunda göreceli olarak malar ve mandibula açısında azalma gözlemlendiği tespit edilmiştir (121).

Ancak tüm bu çalışmalar kraniyofasiyal büyüme aşamasını tamamlamış erişkinlerde yapılmış olduğu için çiğneme fonksiyonlarındaki tespit edilen bu değişikliklerin kemik gelişimi üzerindeki etkileri gösterilememiştir.

Literatürde yumuşak doku ve kas için yapılan girişimlerin kraniyofasiyal gelişimi büyük ölçüde etkilediği saptanmıştır. Bu sonuçlardan yola çıkılarak kraniyofasiyal yapının şekillendirilmesinde cerrahi gibi *invaziv* ve *irreversible* yöntemlerdense, *noninvaziv* ve *reversible* olarak nitelendirebileceğimiz Botulinum Toksin A uygulamasını tercih ettik. Botulinum toksini uygulaması ile kimyasal denervasyon sağlanarak kas aktiviteleri lokalize olarak azaltılmaktadır.

Çalışmanın amacı; kas kemodenervasyonu sonucu oluşan kraniyofasiyal kemik yapı büyüme ve gelişimindeki değişikliklerin araştırılmasıdır. Bu amaçla, kraniyofasiyal kemik gelişiminde kas gücünün etkisini kas-sinir kavşağında blok yaparak inceleme yöntemi tercih edilmiştir. Böylelikle major çiğneme kaslarının kraniyofasiyal kemik gelişimindeki rolünün belirlenmesi sağlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM:

Çalışma Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Ünitesinde yapıldı. 23.06.2005 tarihli ve 2005/02 sayılı Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı Etik Kurulu onayı alındı.

Çalışmada toplam 49 adet erkek wistar sıçan kullanıldı. Sıçan yavruları 15 günlük olduklarında rastgele gruplara ayrıldı: kontrol grubuna hiçbir girişim yapılmazken, ilk çalışma grubunda sağ masseter ve ikinci çalışma grubunda sağ temporalis kaslarına botulinum toksin-A enjeksiyonu (BOTOX®, Allergan Pharmaceuticals, Ireland), sham-enjeksiyon grubunda ise aynı kaslara serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyon sonrasında tüm yavru sıçanların emzirmesine müseade edildi. Sıçanlar 21. gün sonunda annelerinden ayrılarak her bir kafeste 3 adet denek olacak şekilde kafeslere yerleştirildiler ve katı kıvamda standart sıçan yemi ile beslendiler. Sıçanlar erişkin çağa ulaştıkları dördüncü ay sonunda 100 mg/kg sodyum pentotal intraperitoneal olarak verilerek kurban edildi.

Takiben enjeksiyon yapılan kasların ağırlık ölçümleri ve histolojik değerlendirmeleri yapıldı. Uygun yöntemle soyulan kafatasında osteometrik ölçümler yapıldı.

3.1. Deney Grupları:

Kontrol Grubu (n=11)

Kontrol grubunda yer alan 11 adet sıçan üzerinde doğumdan çalışma sonuna kadar herhangi bir işlem uygulanmadı. Dördüncü ayda sakrifiye edilen denekler saptanan standart yöntemlerle değerlendirildi.

Sham-Enjeksiyon Grubu (n=10)

Enjeksiyona bağlı oluşabilecek olan hematoma, doku travması ve skar gibi yumuşak doku değişikliklerine ait faktörlerin etkilerini ekarte etmek amacıyla bu grupta sadece serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. Sham-enjeksiyon grubuna dahil edilen 15 günlük, 10 adet sıçanın, her bir hayvanda tek bir kas kullanılmak üzere, 5 tanesinin sağ masseter kasına, 5 tanesinin de sağ temporalis kasına 0.5 diziem serum fizyolojik enjekte edildi. Bu hacim BOTOX® enjeksiyonu yapılırken verilen hacime eşitti. Hayvanlar dördüncü ayın sonunda sakrifiye edilerek sonuçlar değerlendirildi.

Masseter Kas Grubu (n=14)

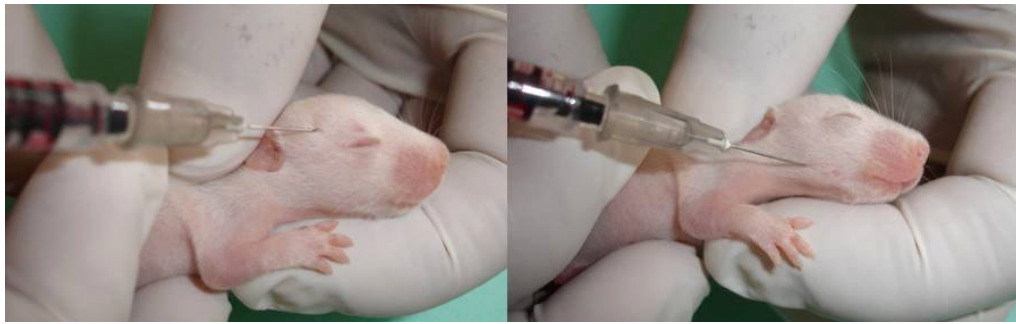
Masseter kas grubuna dahil edilen 15 günlük, 14 adet sıçanın, sağ masseter kasına 0,4 IU (0.5 diziem) BOTOX® enjeksiyonu intramuskuler olarak yapıldı. Enjeksiyonlar standardize edilerek mandibula angulusunun hemen anteriorundaki sabit alana, palpasyondan sonra yapıldı. Enjeksiyon sonrası yavrunun beslenmesi ve emmesi yakından takip edildi. Dördüncü ayın sonunda rutin değerlendirme yapıldı.

Temporal Kas Grubu (n=14)

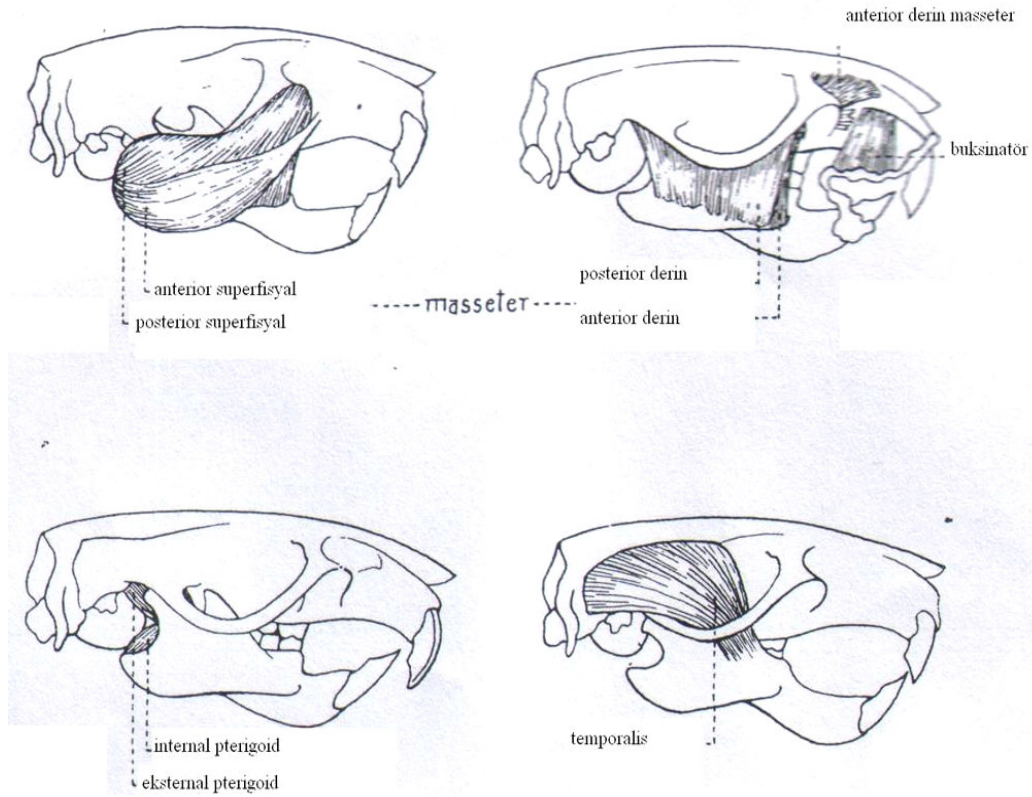
Temporal kas grubuna dahil edilen 15 günlük, 14 adet sıçanın, sağ temporal kasına 0,4 IU (0.5 diziem) BOTOX® enjeksiyonu intramuskuler olarak verildi. Enjeksiyon noktası olarak orbitanın lateral duvarının 3-4 mm posterioru kullanıldı. Bu grupta da yavrunun emmesi ve beslenmesi yakından takip edildi. Dördüncü ayın sonunda denekler sakrifiye edildi.

3.2. Botulinum Toksini Hazırlanması ve Enjeksiyonu

Botulinum toksin tip A, BOTOX® piyasa ismi ile Allergan firmasının üretimi olup, ülkemize Abdi İbrahim ilaç pazarlama AŞ. tarafından getirilmektedir. Saflaştırılmış toz halindeki nörotoksin kompleksi 100 IU botulinum toksin tip A içeren flakonlar halinde ambalajlanmıştır. Toksinin bu çalışmadaki uygulama dozu 20 IU/kg olarak saptandı. (113,114,126). Enjeksiyonun yapıldığı 15 günlük sıçanların ağırlıkları ortalama 20 gr olarak tespit edildi. Uygulama dozu her kas grubu için 0,4 IU BOTOX® olarak hesaplandı. Çalışmalar 1 dizi Botulinum toksininin 1-1.5 cm çapında bir alana nüfus ettiğini göstermiştir (127). Bu nedenle toksinin diffüzyon çapını minimuma indirmek için uygulama miktarı ½ dizi olarak seçildi. İçinde 100 IU olan 1 flakon BOTOX® 12 ml serum fizyolojik ile dilüe edilerek ½ dizi içinde 0,4 IU BOTOX® içeren uygulama miktarları hazırlandı. BOTOX® kabarcıklanma veya sert hareketler ile denatüre olduğundan çözücü flakon içine çok yavaş, flakon duvarından aşağıya süzülecek şekilde verildi. BOTOX® enjeksiyondan hemen önce hazırlanarak 30 gauge iğne ile enjekte edildi. Enjeksiyon masseter grubunda angulusun hemen ön bölgesine, temporal kas enjeksiyonunda ise orbitanın lateralinin 3-4 mm posterioruna yapıldı (Şekil 3.1, Şekil 3.2). Tüm doz tek seferde ve tek noktaya verildi.



Şekil 3.1. Masseter ve temporalis kaslarına yapılan enjeksiyon noktaları



Şekil 3.2. Sıçanlarda massater ve temporalis kaslarının anatomisi

3.3. Değerlendirme

Çiğneme kaslarının kemodenervasyonunun kraniyofasiyal kemik büyümesine etkisinin belirlenmesi için sıçanların vücut ağırlıkları, kas ağırlıkları, osteometrik ölçümler ve kasların histopatolojik özellikleri incelendi.

Sıçanlar büyüme ve gelişimlerini tamamladıkları dördüncü ayın sonunda 100 mg/kg intraperitoneal tiyopental sodyum (pentotal) enjeksiyonu ile uyutuldu. Ölçülen vücut ağırlık değerleri osteometrik ölçümlerin istatistiksel analizi yapılırken verilerin standartizasyonu amaçlı kovaryat olarak kullanıldı.

Masseter ve temporal kasların değerlendirilmesi: Vücut ağırlığı ölçümlerinin yapılmasının ardından tüm sıçanlar dekapitalize edildi. Kraniyofasiyal bölgedeki cilt, ciltaltı ve yumuşak dokular disseke edilerek kaslar ortaya konuldu (Şekil 3.3).



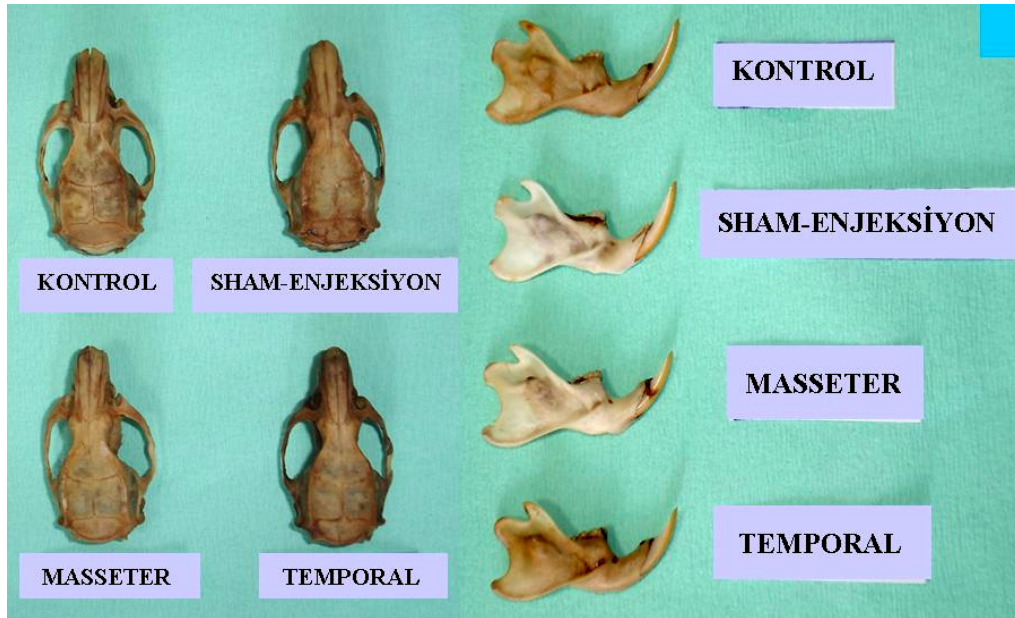
Şekil 3.3. Kontrol grubunda sıçanların sakrifiye edilerek, kas yapılarının ortaya konulması

Ardından kafatasının her iki yanındaki masseter ve temporalis kaslarının origo ve insersiyoları tespit edilerek, kemiğe yapışma yerlerinden loop ile magnifikasyon altında mikrodiseksiyon yöntemiyle ayrıldı. Disseke edilen kasların 0,0001 gr duyarlılıklı hassas tartı (*FA2004N electronic balance*) ile yaş ağırlık ölçümleri yapıldı. Ölçümden sonra kaslar histolojik inceleme amacıyla %10 formol kullanılarak tespit edildi. Takiben, kasların yatay ve dikey kesitleri alınarak parafin bloklara gömme işlemi yapıldı. Hazırlanan bloklardan 5µ kalınlığında kesitler alınarak hemotoksilen-eosin (H&E) ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda 20 ve 40 büyütmede incelendi.

Direkt Osteometrik ölçümler: Kraniyofasiyal osteometrik ölçümlerin yapılabilmesi için kafatasları arda kalan yumuşak dokulardan temizlendi. Daha sonra kafatasları %30'luk amonyak solüsyonu içinde benmari usulüyle 100 °C de 30 dakika kaynatılarak kemik yapının üzerindeki tüm yumuşak dokulardan temizlenmesi sağlandı. Takiben, temizlenen kafatasları 24 saat 37 °C de etüvde bekletildikten sonra osteometrik ölçümlere hazır hale getirildi. Her kafatasında 17 si kraniyofasiyal ve 13 ü mandibular olmak üzere toplam 30 adet ölçüm yapıldı. Ölçümlerde 0.01 mm duyarlılıklı dijital kumpas kullanıldı (Shan 150 mm; Guillin Measuring and Cutting Tool Works, Guillin, Guangxi, China). (Şekil 3.4, Şekil 3.5, Tablo 3.1, Şekil 3.6).



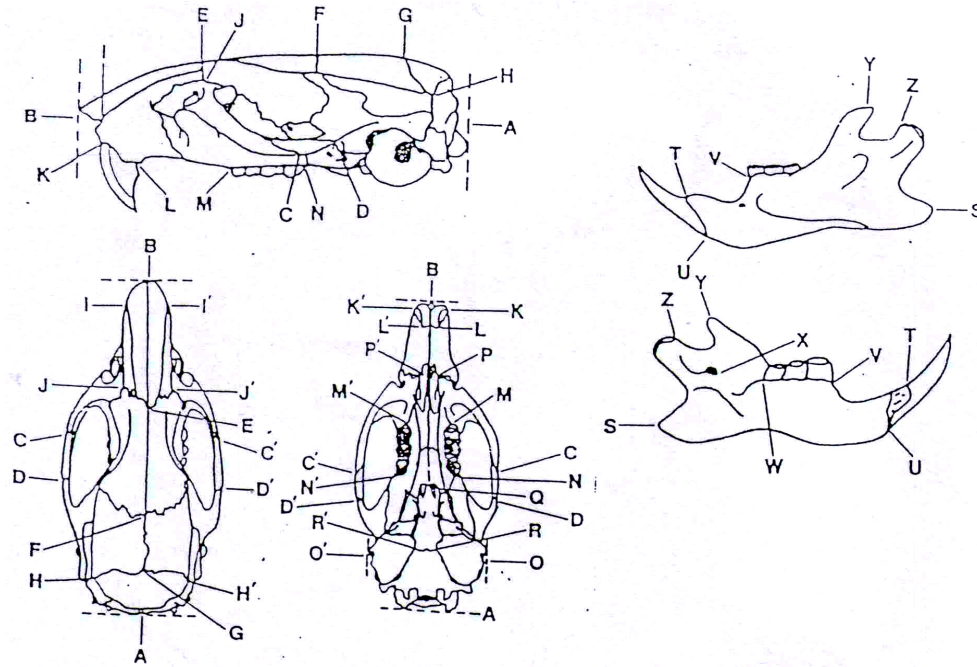
Şekil 3.4. Dijital kumpas ile osteometrik ölçümlerin yapılması



Şekil 3.5. Direkt osteometrik ölçümler için hazır hale getirilmiş kraniyofasiyal kemik yapıları

Tablo 3. 1. Direkt osteometrik ölçüm noktalarının anatomik olarak tanımlanması

KRANIYOFASİYAL MORFOMETRİK ÖLÇÜMLER	
Anteriormost nasal spina-okspital kondil (Kafatası uzunluğu)	A-B
Midline frontonazal sutur - Premaksillonazal sutur	E-I
Maksillozigomatik sutur - Premaksillonazal sutur	C-I
Zigomatikosquamoza sutur - Premaksilla frontomaksiller sutur	D-J
Zigomatikosquamoza sutur - Midline frontonazal sutur	D-E
Anteriormost incisopremaksiller contact - Anterior birinci molar	K-M
Anteriormost incisopremaksiller kontakt-Oksipito bulbobasissphenoid kontakt	K-R
Premaksillomaksiller sutur - Anterior birinci molar	P-M
Premaksillomaksiller sutur - Maksillozigomatik sutur	P-C
Anterior birinci molar - Maksillozigomatik sutur	M-C
Anterior birinci molar - Zigomatikosquamoza sutur	M-D
Posterior üçüncü molar - Maksillozigomatik sutur	N-C
Posterior üçüncü molar - Zigomatikosquamoza sutur	N-D
Posterior üçüncü molar - Oksipitobulbobasissphenoid kontakt	N-R
Posterior palatal spine - Maksillozigomatik sutur	Q-C
Posterior palatal spine - Oksipitobulbobasissphenoid kontakt	Q-R
Oksipitobulbobasissphenoid kontakt - Maksillozigomatik sutur	R-C
MANDİBULAR MORFOMETRİK ÖLÇÜMLER	
Gonial angle - Superiormost incisorcorpus kontakt	S-T
Gonial angle - Posterior üçüncü molar	S-W
Gonial angle - Superiormost koronoid proses	S-Y
Gonial angle - Anteriormost kondiler eklem yüzeyi	S-Z
Superiormost incisorcorpus kontakt - Posterior üçüncü molar	T-W
Superiormost incisorcorpus kontakt - Superiormost koronoid proses	T-Y
Superiormost incisorcorpus kontakt - Anteriormost kondiler eklem yüzeyi	T-Z
İnferiormost incisorcorpus kontakt - Superiormost koronoid proses	U-Y
İnferiormost incisorcorpus kontakt - Anteriormost kondiler eklem yüzeyi	U-Z
Anterior birinci molar - Superiormost koronoid proses	V-Y
Posterior üçüncü molar - Superiormost koronoid proses	W-Y
Posterior üçüncü molar - Anteriormost kondiler eklem yüzeyi	W-Z
Superiormost koronoid proses - Anteriormost kondiler eklem yüzeyi	Y-Z



Şekil 3.6. Sıçan kraniyofasiyal kemik yapısındaki direkt osteometrik ölçümlerin yapıldığı referans noktaları

3.4 İstatiksel yöntem

Sonuçların değerlendirilmesinde aşağıdaki parametreler istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır:

- i. Aynı grup içinde kemodenervasyon yapılan sağ ve herhangi bir girişim yapılmayan sol tarafa ait temporal ve masseter kas ağırlıklarının eş yapma t testi (paired samples test) yapılarak karşılaştırılması,
- ii. Aynı grup içinde enjeksiyon yapılan sağ taraf ve herhangi bir girişim yapılmayan sol taraf osteometrik ölçümlerinin eş yapma t testi ile karşılaştırılması,
- iii. Sağ osteometrik ve sol osteometrik ölçümlerin gruplar arasında kovaryans analizi ve bonferroni testi ile karşılaştırılması.

Kraniyofasiyal kemik gelişimindeki değişikliklerin ortaya konması için veri analizinde, denekler arasındaki farklılıkların giderilerek homojen bir grup elde edilmesi amaçlı vücut ağırlıkları değişkeni ve kraniyal modül örnek alınarak kovaryans analizi yapıldı. Grupları karşılaştırırken, kraniyofasiyal ölçümler üzerine olası etkilerinin giderilmesi için vücut ağırlığı ve kafatası boyutu (A-B değeri) içeren

bir model kurulmuş ve istatistik analizler bu model aracılığı ile yürütülmüştür. Vücut ağırlığı ve A-B değeri (kafatası uzunluğu) modele kovaryat değişken olarak dahil edilerek, ölçüm sonuçları ağırlık ve kafatası boylarının etkisi giderilerek düzeltilmiştir (48). Analiz sonucunda farklı olan grupların belirlenmesinde Bonferroni testi kullanılmıştır. Hesaplamalarda SPSS (ver. 11.5) programı kullanılmış ve I. Tip hata yapma olasılığı %5 olarak alınmıştır.

BULGULAR

4.1. Kas ağırlıkları

Kas ağırlıkları masseter ve temporal kas gruplarında botulinum toksini ile yapılan kemodenervasyonun kas üzerindeki etkilerini ortaya koymak amacıyla, sağ ve sol kas ağırlık farklılıklarının karşılaştırılması ile analiz edilmiştir. İstatistiksel analiz Eş Yapma t testi (*Paired Samples Test*) ile yapılmıştır.

Kontrol grubunda masseter ve temporal kas ağırlıkları açısından sağ ve sol taraflar arasında bir farklılık görülmemiştir ($P>0,05$).

Sham enjeksiyon grubunda sağ ve sol tarafa ait masseter kas ağırlıkları arasında ($P=0,509$) ve sağ ve sol tarafa ait temporal kas ağırlıkları arasında ($P=0,332$) anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. SF grubunda kas ağırlıklarının karşılaştırılması

EŞ YAPMA t TESTİ								
Sağ /sol kas ağırlığı karşılaştırması	Eşleştirme farklılıkları					t	df	p
	ortalama	Std. deviasyon	Std.hata ortalaması	%95 güvenlik aralığında farklılıkların sınırları				
				Alt	Üst			
Masseter kas sağ / sol	,01377	,06333	,02003	-,05907	,03153	-,688	9	0,509
Temporal kas sağ / sol	,01362	,04205	,01330	-,01646	,04370	1,024	9	0,332

Masseter kasına botulinum toksini ile kemodenervasyon yapılan grupta (M) sağ ve sol taraf masseter kas ağırlıklarının karşılaştırılması sonucunda farklılık tespit edilmiş olup ($P=0,0001$), bu sonuca göre sağ taraf masseter kas ağırlığının anlamlı düzeyde azalmış olduğu görülmüştür. Aynı grupta sağ ve sol taraf temporal kas ağırlıklarının karşılaştırılmasında bir farklılık olmadığı ($P=0,13$) görülmüştür (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. M grubunda kas ağırlıklarının karşılaştırılması

EŞ YAPMA t TESTİ								
Sağ /sol kas ağırlığı karşılaştırması	Eşleştirme farklılıkları					t	df	p
	ortalama	Std. deviasyon	Std.hata ortalaması	%95 güvenlik aralığında farklılıkların sınırları				
				Alt	Üst			
Masseter kas sağ / sol	-,12417	,05868	,01568	-,15805	-,09029	-7,918	13	,0001
Temporal kas sağ / sol	-,01477	,03418	,00914	-,03451	,00497	-1,617	13	,13

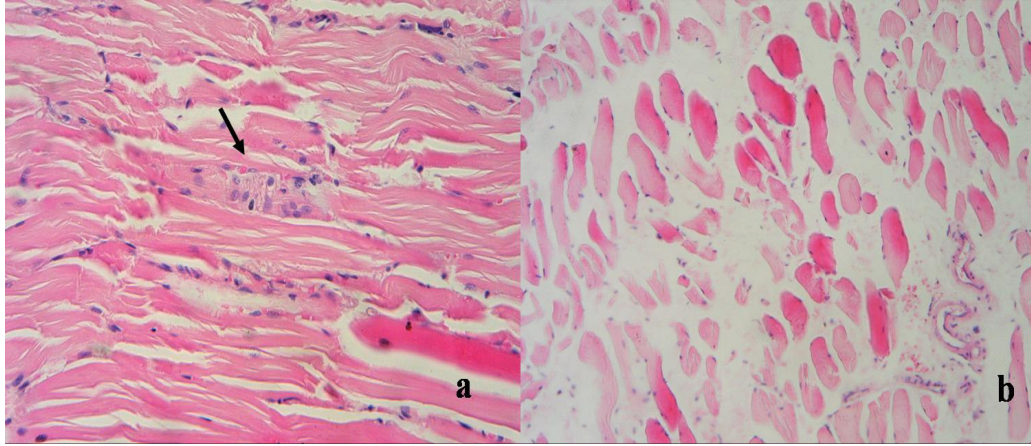
Temporal kasına botulinum toksini ile kemodenervasyon yapılan grupta (T) sağ ve sol taraf temporal kas ağırlıklarının karşılaştırılması sonucunda farklılık tespit edilmiş olup (P=0,001) sağ taraf temporal kas ağırlığının belirgin düzeyde azaldığı görülmüştür. Aynı grupta sağ ve sol taraf maseter kas ağırlıklarının karşılaştırılması sonucunda farklılık tespit edilmiş olup (P=0,045), bu sonuca göre sağ taraf maseter kas ağırlığının anlamlı düzeyde azalmış olduğu görülmüştür. (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. T grubunda kas ağırlıklarının karşılaştırılması

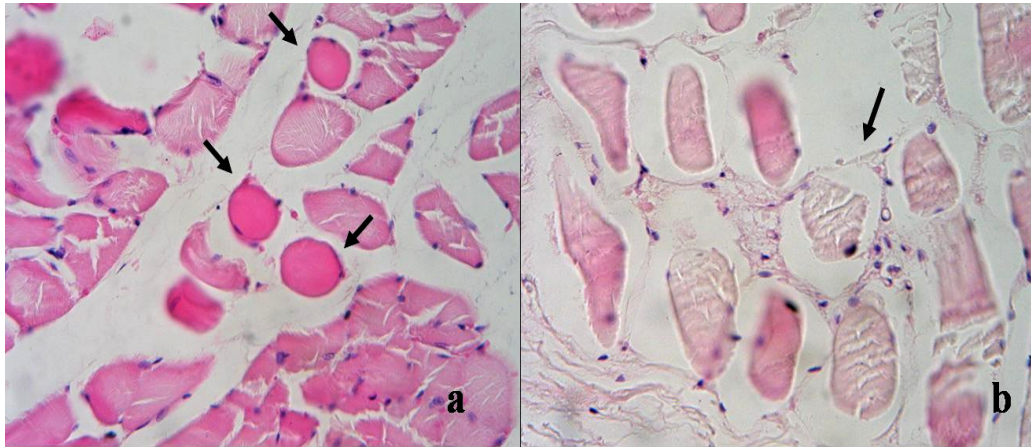
EŞ YAPMA t TESTİ								
Sağ_sol kas ağırlığı karşılaştırması	Eşleştirme farklılıkları					t	df	p
	ortalama	Std. deviasyon	Std.hata ortalaması	%95 güvenlik aralığında farklılıkların sınırları				
				Alt	Üst			
Maseter kas sağ_sol	-,03984	,06705	,06705	-,07856	-,00113	-2,223	13	,045
Temporal kas sağ_sol	-,04106	,03723	,00995	-,062256	-,01956	-4,126	13	,001

4.2. Kas Histopatolojisi

Kontrol ve SF gruplarında kas morfolojisinde bir değişim izlenmezken, BOTOX® ile kemodenervasyon yapılan maseter ve temporal kaslarda postdenervasyon atrofi ve dejenerasyona ait bulgular izlenmiştir. Kaslar denervasyon atrofi skorlama yöntemi ile analiz edilerek, kas liflerinde çizgilenme kaybı, nükleus internalizasyonu, multinükleasyon, kas fibril çaplarında azalma, miyonekroz ve endomiyoziyal fibrozis tespit edilmiştir (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Botulinum toksini yapılan kaslardaki histopatolojik bulgular, **a:** Kasın boyuna kesiti, (H&E x40), kaslarda minimal çizgilenme kaybı, çekirdek internalizasyonu ve multinükleasyon **b:** Kasın enine kesiti, (H&E, x20), kas liflerinin çaplarında azalma



Şekil 4.2. Botulinum toksini yapılan kaslardaki histopatolojik bulgular, **a:** kasın enine kesiti, H&E, x40, kas liflerindeki belirgin çizgilenme kaybı; **b:** kasın enine kesiti, H&E, x40, miyonekroz ve endomyoziyal fibrozis

4.3. Direkt Osteometrik Ölçümler

Deney gruplarında çiğneme kaslarına uygulanan kemodenervasyonun kemik yapının büyüme ve gelişimi üzerindeki etkileri direkt osteometrik ölçümler yapılarak araştırıldı. Botulinum toksini uygulanan sağ taraf ve hiçbir müdahale yapılmayan sol taraftan elde edilen sonuçların grup içinde ve sağ ve sol taraf ölçüm oranlarının gruplar arasında karşılaştırılması ile kemik büyümesi üzerindeki etkisi belirlendi.

Sağ ve Sol Kraniyofasiyal Osteometrik Ölçüm Farklılıklarının Karşılaştırılması: Her bir grupta ayrı ayrı sağ ve sol ölçümlerin karşılaştırılmasında Eş Yapma t Testi kullanılmıştır.

Kontrol grubu (K)

Tablo 4.4' de kontrol grubunda sağ-sol farklarının anlamlılıklarına ait toplu sonuçlar yer almaktadır. Tablo 4.4 incelendiğinde NC sağ ortalaması ile NC sol ortalaması arasındaki fark istatistik olarak anlamlı bulunmuş ($P=0.045$) ve sağ ölçüm ortalamasının anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bunun dışındaki osteometrik ölçümlerde sağ ile sol farkı anlamlı bulunmamıştır. 29 veri arasında tek bir ölçümde çıkan fark klinik olarak bir öneme sahip olmayıp, istatistiksel bir sonuçtur.

Sham-Enjeksiyon Grubu (SF)

Tablo 4.5' de SF grubunda sağ-sol farklarının anlamlılıklarına ait toplu sonuçlar yer almaktadır.

Tablo 4.5 incelendiğinde sağ taraf DJ ($P=0.019$), PC ($P=0.014$), NC ($P=0.010$), TY ($P=0.042$) ve TZ ($P=0.045$) ölçümlerinin ortalaması ile sol taraf ölçümlerinin ortalaması arasındaki fark istatistik olarak anlamlı bulunmuş bunun dışındaki osteometrik ölçümlerde sağ ile sol farkı anlamlı bulunmamıştır. Farklı değerler açısından sağ taraf ölçüm ortalamaları sol taraf ortalamalarına göre anlamlı düzeyde azalmış olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.4. Kontrol grubuna ait sağ ve sol taraf kraniyofasiyal ölçümlerin karşılaştırılması. “Ortalama” sütununda, fark ortalaması negatif ise sağ taraf ölçümü sol tarafa göre küçük, pozitif ise büyüktür ($P \leq 0,05$)

	Ortalama	Std. Deviasyon	Std.Hata Ortalaması	P
<i>Kraniyofasiyal ölçümlerin analizi</i>				
EI	-0,0036	0,03802	0,01146	0,758
CI	0,0145	0,03045	0,00918	0,144
DJ	0,0064	0,02976	0,00897	0,494
DE	-0,0164	0,06120	0,01845	0,396
KM	-0,0073	0,05729	0,01727	0,683
KR	0,0464	0,10548	0,03180	0,176
PM	-0,0036	0,02063	0,00622	0,572
PC	0,0218	0,04792	0,01445	0,162
MC	0,0009	0,04011	0,01209	0,942
MD	-0,0255	0,07488	0,02258	0,286
NC	0,0227	0,03289	0,00992	0,045
ND	0,0700	0,21298	0,06422	0,301
NR	0,0409	0,09751	0,02940	0,194
QC	0,0218	0,03430	0,01034	0,061
QR	-0,0164	0,03641	0,01098	0,167
RC	0,0309	0,09181	0,02768	0,290
<i>Mandibular ölçümlerin analizi</i>				
ST	0,0136	0,05714	0,01723	0,447
SW	0,0100	0,03550	0,01070	0,372
SY	-0,0055	0,02734	0,00824	0,523
SZ	0,0009	0,03177	0,00958	0,926
TW	0,0764	0,12380	0,03733	0,068
TY	0,0000	0,02608	0,00786	1,000
TZ	0,0445	0,12413	0,03743	0,261
UY	0,0109	0,03113	0,00939	0,272
UZ	0,0145	0,06267	0,01890	0,459
VY	-0,0100	0,01732	0,00522	0,085
WY	0,0036	0,02292	0,00691	0,610
WZ	0,0545	0,12910	0,03893	0,191
YZ	0,0055	0,04655	0,01404	0,706

Tablo 4.5. SF grubuna ait sağ ve sol taraf kraniyofasiyal ölçümlerin karşılaştırılması
 “Ortalama” sütununda, fark ortalaması negatif ise sağ taraf ölçümü sol tarafa göre küçük, pozitif ise büyüktür ($P \leq 0,05$)

	Ortalama	Std. Deviasyon	Std.Hata Ortalaması	P
<i>Kraniyofasiyal ölçümlerin analizi</i>				
EI	0,0760	0,32377	0,10238	0,477
CI	-0,1310	0,18502	0,05851	0,052
DJ	-0,1150	0,12791	0,04045	0,019
DE	-0,1000	0,20634	0,06525	0,160
KM	-0,0310	0,12188	0,03854	0,442
KR	-0,0460	0,09571	0,03027	0,163
PM	-0,0110	0,07141	0,02258	0,638
PC	-0,1480	0,15354	0,04855	0,014
MC	-0,1130	0,17314	0,05475	0,069
MD	-0,0780	0,31435	0,09941	0,453
NC	-0,0920	0,08867	0,02804	0,010
ND	-0,0110	0,10979	0,03472	0,759
NR	-0,0630	0,10001	0,03162	0,078
QC	-0,0260	0,04222	0,01335	0,083
QR	-0,0130	0,08807	0,02785	0,652
RC	-0,0480	0,07969	0,02520	0,089
<i>Mandibular ölçümlerin analizi</i>				
ST	-0,1100	0,26856	0,08952	0,254
SW	-0,0567	0,19384	0,06461	0,406
SY	0,0962	0,14569	0,05151	0,104
SZ	0,0522	0,22399	0,07466	0,504
TW	-0,0340	0,06293	0,01990	0,122
TY	-0,1289	0,16003	0,05334	0,042
TZ	-0,1690	0,23034	0,07284	0,045
UY	-0,0600	0,13067	0,04356	0,206
UZ	-0,1470	0,34561	0,10929	0,212
VY	-0,0867	0,26129	0,08710	0,349
WY	0,0189	0,20478	0,06826	0,789
WZ	-0,0620	0,27312	0,08637	0,491
YZ	-0,0244	0,10273	0,03424	0,496

SF grubunda, grup içinde sağ ve sol tarafa ait ölçümlerin karşılaştırılması sonucunda osteometrik ölçümlerde maksilla ve zigomatik ark genişliği (D-J, P-C, N-C) mesafelerinde ve mandibula yüksekliğinde (T-Y, T-Z) azalma olduğu görüldü.

Masseter Kas Grubu (M)

Tablo 4.6’ da M grubunda sağ-sol farklarının anlamlılıklarına ait toplu sonuçlar yer almaktadır. KR, NR, QR, RC, ST, SW ve TW ölçümlerinde sağ-sol farkı anlamlı bulunmaz iken diğer farklar istatistik olarak anlamlı bulunmuştur.

Tablo 4.6. Masseter grubuna ait sağ ve sol taraf kraniyofasiyal ölçümlerin karşılaştırılması. “Ortalama” sütununda, fark ortalaması negatif ise sağ taraf ölçümü sol tarafa göre küçük, pozitif ise büyüktür ($P \leq 0,05$)

	Ortalama	Std. Deviasyon	Std.Hata Ortalaması	P
<i>Kraniyofasiyal ölçümlerin analizi</i>				
EI	-0,1950	0,14732	0,03937	0,0001
CI	-0,5029	0,20864	0,05576	0,0001
DJ	-0,6764	0,40788	0,10901	0,0001
DE	-0,4543	0,24647	0,06587	0,0001
KM	-0,2864	0,30117	0,08049	0,003
KR	-0,1507	0,34529	0,09228	0,126
PM	-0,2486	0,19627	0,05245	0,0001
PC	-0,9086	0,18769	0,05016	0,0001
MC	-0,8950	0,21132	0,05648	0,0001
MD	-0,3271	0,42247	0,11024	0,011
NC	-0,8393	0,23624	0,06314	0,0001
ND	-0,5579	0,32603	0,08713	0,0001
NR	-0,0779	0,49871	0,13329	0,569
QC	-0,5443	0,18173	0,04857	0,0001
QR	-0,3457	0,64828	0,17326	0,067
RC	-0,0300	1,46686	0,39203	0,940
<i>Mandibular ölçümlerin analizi</i>				
ST	0,5062	3,37233	0,93532	0,598
SW	-1,6969	3,71317	1,02985	0,125
SY	-0,5946	0,38502	0,10679	0,0001
SZ	-0,5208	0,79056	0,21926	0,0035
TW	-0,7821	1,91034	0,51056	0,150
TY	-0,5314	0,45304	0,12108	0,001
TZ	-0,3664	0,50029	0,13371	0,017
UY	-0,4329	0,26991	0,07214	0,0001
UZ	-0,5893	0,52522	0,14037	0,001
VY	-0,2921	0,26948	0,07202	0,001
WY	-0,4743	0,24862	0,06645	0,0001
WZ	-0,4414	0,30647	0,08191	0,0001
YZ	0,4421	0,28994	0,07749	0,0001

Tablo 4.6 incelendiğinde, anlamlı olan farklarda sağ ölçümlerinin belirgin şekilde sol taraftaki ölçümlerinden küçük olduğu görüldü. Sadece Y-Z ölçümünde sağ tarafın ortalaması daha yüksek bulundu.

Masseter kasına BOTOX® enjeksiyonu yapılan grup içinde sağ ve sol ölçümlerinin karşılaştırılması sonucunda kraniuma ait morfometrik ölçümlerden kafatabanı ile ilişkili değerleri (K-R, N-R, Q-R ve R-C) ile mandibula korpus boyuna ait (S-T, S-W ve T-W) değerlerinin değişmediği gözlemlendi. Masseter kasının kraniumda ilişkili olduğu kemik yapılardan, maksilla, zigomatik ark ve zigomatik arkın yapısına katılan premaksillanın ölçümlerinde karşı tarafa nazaran azalma olduğu; mandibulada ise ramus boyu ile kondil ve koronoid çıkıntıyla ilişkili mesafelerde karşı tarafa nazaran azalma olduğu görüldü. Kondil ve koronoid boyutlarında azalma, Y-Z ölçümünde (kondil ve koronoid arasındaki mesafe) istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde artma şeklinde karşımıza çıktı.

Temporal Kas Grubu (T)

Tablo 4.7’de T grubunda sağ-sol taraf osteometrik ölçüm farklarına ait toplu sonuçlar yer almaktadır. Bütün ölçümlerde sağ-sol farkının istatistik olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Sadece YZ ölçümünde sağ tarafa ait ölçüm ortalaması, sol taraf değerlerine göre daha büyük bulunurken, diğer ölçümlerde sağ taraf ölçüm ortalamaları anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur.

Y-Z (kondil ve koronoid arasındaki mesafe) değerinde anlamlı düzeydeki artış ise koronoid gelişimindeki gerilik nedeniyle, boyutlarındaki azalmanın bir yansıması olarak karşımıza çıkmaktadır.

Temporal kasın kraniumda squamosal ve frontal kemikle olan geniş bir zemindeki ilişkisi ve mandibulada koronoid üzerindeki lokalizasyonu nedeniyle tüm kranial ölçümlerin etkilenmiş ve sol taraf ölçümlerine nazaran anlamlı düzeyde azalmış olduğu görüldü.

Tablo 4.7. T grubunda sağ-sol farklarının anlamlılıklarına ait toplu sonuçlar yer almaktadır. “Ortalama” sütununda, fark ortalaması negatif ise sağ taraf ölçümü sol tarafa göre küçük, pozitif ise büyüktür ($P \leq 0,05$)

	Ortalama	Std. Deviasyon	Std.Hata Ortalaması	P
<i>Kraniyofasiyal ölçümlerin analizi</i>				
EI	-0,2236	0,13130	0,03509	0,0001
CI	-0,5007	0,24525	0,06554	0,0001
DJ	-0,5064	0,28300	0,07563	0,0001
DE	-0,3314	0,20895	0,05584	0,0001
KM	-0,3250	0,16529	0,04417	0,0001
KR	-0,2457	0,16196	0,04328	0,0001
PM	-0,2614	0,14517	0,03880	0,0001
PC	-0,4771	0,29653	0,07925	0,0001
MC	-0,6300	0,40525	0,10831	0,0001
MD	-0,3357	0,18413	0,04921	0,0001
NC	-0,6243	0,29656	0,07926	0,0001
ND	-0,4007	0,34813	0,09304	0,001
NR	-0,3993	0,28540	0,07628	0,0001
QC	-0,4957	0,24657	0,06590	0,0001
QR	-0,2707	0,23080	0,06168	0,001
RC	-0,4093	0,31200	0,08339	0,0001
<i>Mandibular ölçümlerin analizi</i>				
ST	-0,3164	0,22741	0,06078	0,0001
SW	-0,4007	0,22483	0,05997	0,0001
SY	-0,4364	0,33189	0,08870	0,0001
SZ	-0,4014	0,24729	0,06609	0,0001
TW	-0,3843	0,27862	0,07446	0,0001
TY	-0,4550	0,18517	0,04949	0,0001
TZ	-0,4929	0,43484	0,11622	0,001
UY	-0,4986	0,45617	0,12192	0,001
UZ	-0,5321	0,38857	0,10385	0,0001
VY	-0,2393	0,28023	0,07490	0,007
WY	-0,4493	0,28575	0,07637	0,0001
WZ	-0,3721	0,25855	0,06910	0,0001
YZ	0,5079	0,34378	0,09188	0,0001

Kraniyofasiyal osteometrik ölçümlerde sağ ve sol taraflar arasındaki oranların gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar arasındaki karşılaştırmada kraniyofasiyal kemik gelişimdeki değişiklikler, sağ ve sol osteometrik ölçüm oranları karşılaştırılarak (Tablo 4.8) farklı olan gruplar belirlenmiştir (Tablo 4.9).

Tablo 4.8. Sağ ve sol taraf osteometrik ölçümlerinin oranlanmasıyla elde edilen değerler bakımından gruplar arasındaki farklılıkların saptanması ($p \leq 0,05$ olduğu osteometrik değer açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır)

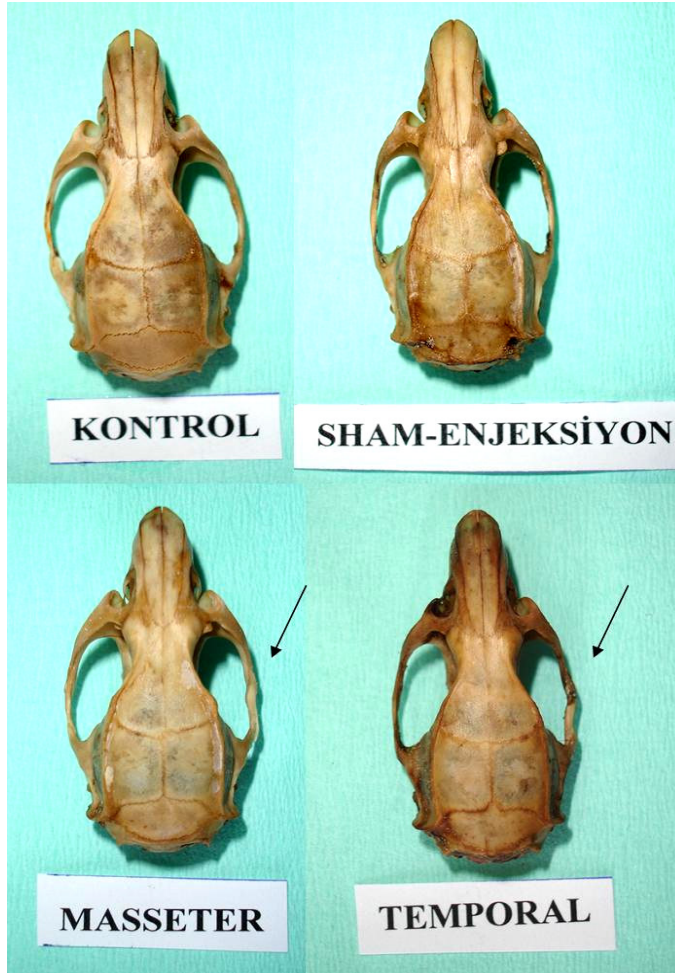
Oranlar sağ/sol	K	SF	M	T	P
	Sağ/sol osteometrik ölçüm ortalamalarının oranları ±standart sapma				
	Kraniyal Osteometrik Ölçümler				
EI	1,004 ±0,005	1,002 ±0,004	0,985 ±0,003	0,984 ±0,003	0,0001
CI	1,000 ±0,003	0,994 ±0,003	0,980 ±0,002	0,978 ±0,002	0,0001
DJ	0,999 ±0,007	0,994 ±0,006	0,963 ±0,005	0,970 ±0,005	0,0001
DE	1,001 ±0,004	0,992 ±0,004	0,975 ±0,003	0,984 ±0,003	0,0001
KM	1,003 ±0,005	0,993 ±0,005	0,980 ±0,004	0,977 ±0,004	0,0001
KR	1,002 ±0,003	0,998 ±0,003	0,995 ±0,002	0,992 ±0,002	0,014
PM	0,998 ±0,009	1,011 ±0,008	0,954 ±0,006	0,952 ±0,006	0,007
PC	0,998 ±0,005	0,994 ±0,005	0,942 ±0,004	0,966 ±0,004	0,0001
MC	1,003 ±0,009	0,988 ±0,009	0,910 ±0,007	0,940 ±0,006	0,0001
MD	0,997 ±0,009	0,995 ±0,009	0,976 ±0,007	0,974 ±0,006	0,05
NC	1,001 ±0,011	0,990 ±0,011	0,883 ±0,008	0,913 ±0,008	0,0001
ND	0,995 ±0,012	0,986 ±0,012	0,937 ±0,009	0,958 ±0,009	0,001
NR	1,015 ±0,013	0,987 ±0,012	0,989 ±0,010	0,965 ±0,009	0,016
QC	1,004 ±0,006	0,999 ±0,006	0,946 ±0,005	0,954 ±0,004	0,0001
QR	0,987 ±0,014	1,010 ±0,013	0,968 ±0,010	0,968 ±0,010	0,042
RC	1,017 ±0,036	0,982 ±0,034	1,011 ±0,026	0,972 ±0,025	0,591
Mandibular Osteometrik Ölçümler					
ST	1,022 ±0,050	0,967 ±0,050	1,049 ±0,039	0,991 ±0,036	0,519
SW	0,990 ±0,030	1,011 ±0,029	0,906 ±0,023	0,966 ±0,021	0,027
SY	1,000 ±0,009	1,015 ±0,009	0,942 ±0,007	0,957 ±0,007	0,0001
SZ	0,999 ±0,016	1,009 ±0,016	0,947 ±0,012	0,955 ±0,011	0,003
TW	1,015 ±0,022	0,987 ±0,020	0,954 ±0,016	0,972 ±0,015	0,181
TY	1,001 ±0,006	0,992 ±0,005	0,975 ±0,004	0,978 ±0,004	0,001
TZ	1,003 ±0,007	0,992 ±0,007	0,982 ±0,005	0,976 ±0,005	0,019
UY	1,000 ±0,005	0,997 ±0,005	0,979 ±0,004	0,977 ±0,004	0,0001
UZ	1,003 ±0,007	0,990 ±0,007	0,973 ±0,005	0,975 ±0,005	0,004
VY	0,996 ±0,007	0,993 ±0,007	0,982 ±0,005	0,983 ±0,005	0,245
WY	0,994 ±0,009	1,001 ±0,009	0,955 ±0,007	0,947 ±0,006	0,0001
WZ	1,006 ±0,011	0,989 ±0,010	0,954 ±0,008	0,959 ±0,008	0,001
YZ	0,990 ±0,046	1,000 ±0,044	1,185 ±0,034	1,193 ±0,032	0,0001

Tablo 4.9. Gruplar arası farklılıkların tanımlanması ($p \leq 0,05$ olan osteometrik değer açısından karşılaştırılan gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır)

	p K/SF	p K/M	p K/T	p SF/M	p SF/T	p M/T
Kraniyal Osteometrik Ölçümler						
Nazal kemik ve premaksilla uzunluğu						
EI	>0,05	=0.041	=0.007	=0.018	=0.020	>0,05
Maksilla genişliği						
CI	>0,05	=0.0001	=0.0001	=0.003	=0.001	>0,05
DJ	>0,05	=0.001	=0.003	=0.001	=0.038	>0,05
DE	>0,05	=0.0001	=0.007	=0.007	>0,05	>0,05
PC	>0,05	=0.0001	=0.0001	=0.0001	=0.001	=0.0001
QC	>0,05	=0.0001	=0.0001	=0.0001	=0.0001	>0,05
Maksilla uzunluğu						
KM	>0,05	=0.022	=0.001	>0,05	>0,05	>0,05
PM	>0,05	=0.038	=0.001	=0.0001	=0.0001	>0,05
Zigomatik ark genişliği						
MC	>0,05	=0.0001	=0.0001	=0.0001	=0.001	=0.019
MD	>0,05	>0,05	=0.05	>0,05	>0,05	>0,05
NC	>0,05	=0.0001	=0.0001	=0.0001	=0.0001	=0.05
ND	>0,05	=0.008	>0,05	=0.008	>0,05	>0,05
Kafatabanı uzunluğu						
KR	>0,05	>0,05	=0.017	>0,05	>0,05	>0,05
NR	>0,05	>0,05	=0.016	>0,05	>0,05	>0,05
QR	>0,05	>0,05	>0,05	=0.05	>0,05	>0,05
Kafatabanı genişliği						
RC	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Mandibular Osteometrik Ölçümler						
Mandibula uzunluğu						
ST	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
SW	>0,05	>0,05	>0,05	=0.038	>0,05	>0,05
TW	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Mandibula yüksekliği						
SY	>0,05	=0.0001	=0.002	=0.0001	=0.0001	>0,05
SZ	>0,05	>0,05	>0,05	=0.017	=0.05	>0,05
TY	>0,05	=0.011	=0.008	>0,05	>0,05	>0,05
TZ	>0,05	>0,05	=0.023	>0,05	>0,05	>0,05
UY	>0,05	=0.003	=0.027	=0.041	=0.035	>0,05
UZ	>0,05	=0.024	=0.012	>0,05	>0,05	>0,05
VY	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
WZ	>0,05	=0.020	=0.001	=0.001	=0.0001	>0,05
WY	>0,05	=0.008	=0.005	=0.044	>0,05	>0,05
Kondil-koronoid arası mesafe						
YZ	>0,05	=0.022	=0.003	=0.009	=0.011	>0,05

SF grubuna ait kraniyofasiyal osteometrik ölçüm oranlarının tümü kontrol grubu oranları ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Masseter (M) ve temporal (T) gruplarının her ikisinde de osteometrik ölçüm oranları, her grup için ayrı ayrı olarak kontrol grubunun oranları ile karşılaştırıldı. Her iki grupta da kontrol ve SF gruplarına oranla osteometrik ölçümlerde anlamlı düzeyde farklılık saptandı (Şekil 4.3).

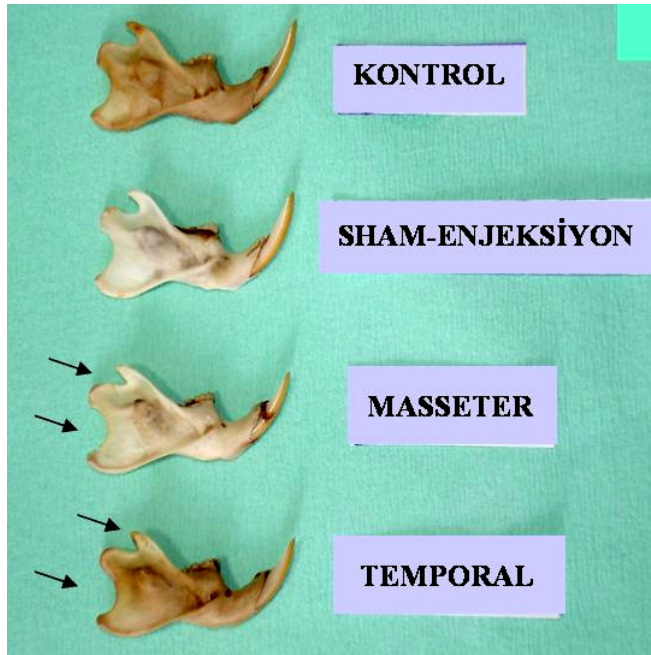


Şekil 4.3. Grupların karşılaştırılması sonucunda masseter ve temporal gruplarında zigomatik ark deformasyonunun görünümü

Farklı olan grupların karşılaştırılması ile masseter ve temporal gruplarında nazal kemik uzunluğunda azalma saptandı. Masseter grubu ölçümleri kontrol ve SF

grupları ile karşılaştırıldığında kafatabanı uzunluk ve genişliğine ait ölçümlerde (K-R, N-R, Q-R ve R-C) ve mandibula uzunluğuna (S-T, S-W, T-W) ait verilerde değişiklik olmadığı gözlemlendi. Temporal grubunda ise mandibula uzunluğuna ait verilerde kontrol grubuna kıyasla değişiklik gözlenmezken, kraniyal taban ölçümlerinin azaldığı saptanmıştır. Masseter ve temporal gruplarında premaksilla, maksilla ve zigomaya ait ölçümlerde belirgin düzeyde azalma göze çarpmaktadır.

Bu ölçümler bazında dikkat çekici bir diğer nokta ise masseter kasına BOTOX® yapılan grupta maksilla ve zigomatik ark genişlik ölçümlerinde (P-C, M-C ve N-C) kontrol grubuna ek olarak, temporal kas grubu ile arasında da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark olmasıdır. Bu değerler masseter kas grubunda temporal kas grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Mandibula uzunluğunun koronoid çıkıntı noktasına bağlı ölçümlerinde görülen azalma (T-Y, U-Y), koronoid gelişim geriliğini ifade etmektedir. Mandibula yüksekliği her iki grupta da belirgin olarak azalmıştır. Mandibula yükseklik ölçümlerindeki azalma ramus gelişim geriliğinin bir göstergesidir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Grupların karşılaştırılması sonucunda masseter ve temporal gruplarındaki mandibula ramus ve koronoid gelişim geriliğinin görünümü

Sonuçlar toplu olarak özetlenecek olursa, masseter ve temporal kas gruplarındaki osteometrik ölçümlerde; özellikle nazal kemik, premaksilla, maksilla, zigomatik ark, mandibula ramus boyutları ve koronoid yapılarında, grupların kendi içinde ve gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda gelişim geriliği dikkat çekicidir.

TARTIŞMA

İnsan fizyolojisinde yüzün rolü, ruhsal ve duygusal durumumuzun ifade edilmesini sağlamakla birlikte görme, işitme, beslenme ve nefes alıp vermemizi sağlayacak hayati yapıları barındırmaktır. Aslında yüz buzdağının su yüzeyindeki görünen kısmını oluşturmaktadır, su altındaki ana kitle ise kraniyofasiyal yapının kendisidir. Kraniyofasiyal büyüme ve gelişiminin düzenlenmesinde, genetik, çevresel, endokrinal, nöromuskuler ve nörotrofik faktörler bölgesel düzeyde ve genel olarak fonksiyon gösterirler. Aktif kafatası gelişimi esnasında bu faktörlerin herhangi birisinde patolojik bir durumun ortaya çıkması, konjenital veya gelişimsel kraniyofasiyal deformitelerin oluşması ile sonuçlanır. Benzer şekilde, kraniyofasiyal morfoloji, aktif büyüme döneminde yapılan cerrahi girişimlerden etkilenerek değişebilir veya gelişmesi engellenebilir. Bölgesel mekanik kuvvetlerin yüz kemiklerini şekillendirebilme kabiliyetlerinin bazı durumlarda değiştiği gösterilmiştir. Örneğin, infantlarda yapılan enukleasyon sonrası, oküler globun gelişmesi için gerekli genişletici kuvvetlerin ortadan kalkmasıyla mikroorbitizm, kraniyofasiyal asimetri görülmüştür; yarık dudak onarımı ile meydana gelen *tensil* (gerim) kuvvetlerinin oluşması, maksiler büyümeyi anteroposterior ve transverse planlarda inhibe ettiği gösterilmiştir (68, 69).

Moyers ve McNamara, nöromuskuler aktivite ile kemik gelişimi arasındaki fonksiyonel ilişki üzerinde durmuş, kas ve kemik hakkındaki biyolojik problemlerin temel kavramlarını tanımlayarak, kas ve kemiğin büyümesini ve fonksiyonlarını etkileyen faktörleri araştırmışlardır. Çalışmamızda kraniyofasiyal bölgedeki kasların fonksiyonları değiştirilerek, kemik yapının büyüme ve gelişiminde ne oranda etkili oldukları *noninvaziv bir yöntemle* araştırılmıştır. Bu amaçla çalışmada, sıçanların bir grupta masseter ve diğer grupta temporal kaslarına botulinum toksini ile kemodenervasyon yapıldı. Çalışmadaki BOTOX® uygulama dozajının seçimi

amacıyla literatürde hayvan çalışmaları üzerinde geniş bir tarama yapılmıştır. Aoki ve ark.'nın sıçanlarda yaptığı çalışmada, lokal ve sistemik kas etkileri bakımından 30 IU/kg doz miktarı ayırım noktası olmuştur. Teorik olarak 20 gr'lık bir sıçanda, 50 IU/kg ve üzeri dozlarda, sistemik etki ile solunum kaslarının (diafram ve interkostal) paralizisi ortaya çıkarak, sıçanın ölümü ile sonuçlanan letal doz olduğu bilinmektedir (113,114,126,127). Tüm bu bulgular doğrultusunda çalışmamızda kullanılmış olan BOTOX® dozu sıçanlarda 20 IU/kg olarak uygulanmıştır.

Drachman 1975 yılında sıçanlarda yaptığı çalışmada, cerrahi olarak denerve edilmiş kaslar ile botulinum toksini uygulanarak denerve edilen kaslar arasında, incelenen parametrelerin hiçbirinde belirgin bir fark bulamamıştır (128). Kraniyofasiyal çiğneme kaslarında botulinum toksini ile sağlanan denervasyon süresinin gelişim çağındaki sıçanların büyüme döneminin tümünü kapsadığı gösterilmiştir. Botulinum toksini uygulanan kas gruplarında fonksiyonel geri dönüş zamanının saptanmasını belirlemek üzere, 1 aylık sıçanlarda 6 IU/kg dozajından botulinum toksini uygulanmıştır. Motor uyarılmış aksiyon potansiyelleri, kas kuvveti jenerasyonu, kas kütlesi ve nöromuskuler bileşke analizleri sonucunda, botulinum toksini uygulanan kasların normal fizyolojik özelliklerini enjeksiyon sonrası ancak 6. ayda geri kazandığı, hatta nöromuskuler bileşkeye ait normal morfolojik özelliklerin ancak 1 yıl sonra geri kazanıldığı tespit edilmiştir (129).

Literatürde, kas denervasyonu sonucunda kas ağırlığında azalma, kas fibril çaplarında azalma, kas fibril kompozisyonunda dejenerasyon meydana geldiği belirtilmiştir (130,131,132). Bu çalışmada kas ağırlığı ve histolojisi, uygulanan kemodenervasyonun başarısını ve varlığını doğrulamak için kullanılmıştır. Beklenen, botulinum toksini enjeksiyonu sonrası literatürle tam uyumlu olmak üzere masseter ve temporalis kaslarında atrofi ve bunun histolojik yansımalarıdır. Botulinum toksin ile kas denervasyonun kraniyofasiyal gelişim üzerine etkileri ancak kemodenervasyonun varlığı tam olarak kanıtlandıktan sonra tartışılabilir. Kas ağırlık ölçümü sonuçlarına bakıldığında, kontrol ve SF gruplarında her iki tarafın masseter ve temporal kas ağırlıklarında farklılık oluşmadığı gözlemlendi. Masseter ve temporal kaslarına botulinum toksini ile kemodenervasyon yapılması sonucunda kasların ağırlıklarında karşı tarafa göre belirgin azalma olmuştur. Bu sonuç kemodenervasyonla oluşan kas atrofisinin bir göstergesi olarak kabul edilir. Dikkat

çekici bir nokta ise temporal kasa kemodenervasyon yapıldığında aynı taraftaki masseter kasının ağırlığında da kontrol grubuna nazaran anlamlı bir azalma görülmektedir. Bunun tersi, yani masseter kemodenervasyonunda temporal atrofi, söz konusu olmamıştır. Bunun en olası açıklaması temporal bölgeye enjekte edilen ajanın yerçekimi etkisi ile masseter origosuna kadar ilerlemesidir.

Yapılan bir çalışmada botulinum toxin-A enjeksiyonu uygulanan sıçanlarda, kasların liflerinde enjeksiyon sonrasında 4. günden itibaren atrofinin başladığı tespit edilmiş (133), nörotoksin uygulanan kas ağırlıklarında azalma görülmüştür (113). Denervasyonla birlikte miyositlerin kesit alanı ve çaplarında azalma başlar, 4 hafta içinde motor end-plate değişiklikleri görülür, 6 haftada dejenerasyon artarak, 16. haftasında gelindiğinde motor end-plateler görülemez hale gelirler (134). Kas denervasyonun erken dönemlerinde myoflament ve sarkomerlerin çoğu halen iyi yerleşimlidir. Bazı kas hücre nükleolleri genişlemiş ve soluklaşmış olarak izlenir. Mitokondrilerde vakuolarizasyon gelişir. Denervasyonun daha geç dönemlerine gelindiğinde myoflamentlerde rüptür ve dezoryantasyon görülür. Nükleuslar küçülmüş, koyulaşmış ve yoğunlaşmış bir hale gelirler. Myofibrillerin etrafında fibroblast, adipozis ve kollajen lifleri proliferasyonu görülür. Denervasyonun 1. yılında motor endplate seçilemez (135). Çalışmamızda kas histopatolojik incelemeleri sonucunda kontrol ve SF gruplarında kas morfolojisinde bir değişim izlenmezken, BOTOX® ile kemodenervasyon yapılan masseter ve temporal kaslarda postdenervasyon atrofisi ve dejenerasyona ait bulgular izlenmiştir. Kaslar denervasyon atrofisi skorumla yöntemi ile analiz edilerek, kas liflerinde çizgilenme kaybı, nükleus internalizasyonu, multinükleasyon, kas fibril çaplarında azalma, miyonekroz ve endomiyoziyal fibrozis tespit edilmiştir.

Denervasyon sonrası kasta meydana gelen atrofik değişiklikler sonucunda kasın vasküler yatağında dramatik bir zayıflama meydana gelir. Postdenervasyon atrofisi histopatogenezendeki bu durumun kasın biyomekanik etkilerinin yanı sıra, üzerinde bulunduğu kemik vaskülaritesini de etkileyerek kemik büyümesinde değişiklik yaratması kaçınılmazdır (136,137) Masseter ve temporal kaslarına uygulanan botulinum toksininin yarattığı denervasyon sonrasında meydana gelen kraniyofasiyal değişiklikler de bu durumda şaşırtıcı olmamaktadır.

Denervasyon dışında, çiğneme fonksiyonlarının diyet yoluyla azaltılmasının fasiyal yapıların morfoloji ve boyutlarını negatif yönde etkilediği gösterilmiştir (72). Diyetle bağlı çiğneme fonksiyonlarındaki değişikliklerin mandibulanın distal bölgelerin morfolojisi ile yakın ilişki içinde bulunduğu belirtilmiş olup, bu alanlardaki büyüme geriliğinin diyetin fiziksel özelliklerine iskelet sisteminin adaptasyonun sonucu olduğu düşünülmektedir (138). Bu konuda yapılan diğer çalışmalarda da azalmış çiğneme fonksiyonlarının mandibula ramus boyutları, koronoid proses ve gonion açısında değişikliklere neden olduğu, yüzün vertikal ve transvers boyutlarını azalttığı rapor edilmiştir (139-142).

Nöromuskuler yapı ve kemik doku, farklılaşmanın erken dönemlerinden itibaren, yakın ve değişen bir ilişki içindedirler. Başlangıçta genetik olarak belirlenmiş kütle, devam eden gelişme mekanizmalarının etkisi ile değişir. Nöromuskuler fonksiyonların değişimi ve dokulardaki dengelerin yeniden kurulması arasında kronolojik bir korelasyon vardır. Deneysel veya doğal olarak değişen fonksiyonların etkileri başlangıçta refleks nöromuskuler bir yanıt olarak, dokulardaki yapısal değişikliklere karşı bir kompensasyon ve yeniden yapılanma şeklinde karşımıza çıkar. Fonksiyonların yeniden yapılandırılması için çeşitli adaptif mekanizmalara maruz kalan herhangi bir kas veya kas grubunda uzama, nöromuskuler feedback mekanizmalarında değişiklik, kemik yüzeyleri boyunca kas yapışma yerlerinde değişiklik, kas değişiklikleri olduğu gibi, ilgili kemik elemanlarında da rotasyon ve/veya displasman görülür. İskelet sistemi adaptasyonları, kompensatuar sistemler aracılığı ile nöromuskuler denge sağlanana kadar görülür ve sonuç olarak iskelet sistemi değişiklikleri ortaya çıkar (8).

Gelişim çağı boyunca yapılan cerrahi girişimler sonucunda kraniyofasiyal morfolojide değişimler ortaya çıkabilir. Buradan yola çıkılarak çiğneme kaslarında fonksiyon değişimlerinin etkisini incelemek üzere, kas myotomisi, transpozisyonu ve rezeksiyonu gibi metotlar gerçekleştirilerek yapılan çalışmalar sonucunda; kraniyofasiyal ve mandibular morfoloji gelişim paterlerinde belirgin değişiklikler saptanmıştır. Ancak cerrahi girişimlerin kullanıldığı çalışmalardan elde edilen sonuçları, cerrahi girişime bağlı oluşan travma, skar, duyu kaybı ve dolaşım bozukluklarının etkileyebileceği belirtilmiştir (71,85). Bu açıdan çalışmamızda kas fonksiyonlarını değiştirmek amaçlı, hiçbir cerrahi girişim ve travma etkisi

sözkonusu olmadan, klinik etkileri kanıtlanmış BOTOX® ile kemodenervasyon yapılması planlandı. Deney gruplarına sham-enjeksiyon grubunun (SF) eklenmesiyle enjeksiyonun bizzat kendisine bağlı lokal travma, hematoma gibi faktörlerin kraniyofasiyal gelişim üzerindeki etkileri belirlendi. Yüzün veya kraniyumun her bir parçası, yapısal ve geometrik olarak diğerinin karşıtıdır. Bu ifade doğrultusunda, parçalar ve karşıt parçaları arasında büyüme yönleri ve boyutlarında meydana gelen değişiklikler bir dengesizlik meydana getirir ki; büyüme gecikmesinin olduğu alanın karşıt-parçasında kompensatuar büyüme izlenir ve bu durum bize “karşıt-parça prensibi”ni açıklar (143). SF grubunda sağ ve sol osteometrik ölçümler arası saptanan değişiklikler (D-J, P-C, N-C, T-Y, T-Z) maksilla ve zigomatik ark genişliği ile kondil ve koronoide bağlı mandibula uzunluğunu belirleyen ölçümlerdi. Enjeksiyona bağlı olarak bir bölgeye ait ölçümlerin tümünde olmasa bile birkaçında değişiklik meydana gelmesi, lokal travmanın minör etkilerini gösterir niteliktedir. Ancak SF grubunun ölçüm oranlarının, kontrol grubu oranları ile karşılaştırılması sonrasında gruplar arasında anlamlı düzeyde fark olmaması, minör değişikliklerin karşıt-parça büyüme prensibi ile kompanse edilerek etkilerinin azaltıldığını göstermektedir. SF grubuna ait osteometrik ölçüm oranlarının kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda hiçbir farklılık gözlenmemesi, enjeksiyona bağlı oluşan etkileri ekarte etmemizi sağladı.

Zigomatik ark, üzerinde bulundurduğu masseter kası gibi güçlü çiğneme kaslarının etkisiyle yüzün büyüme ve gelişiminin “*morfolojik moderatörü*” olarak rol oynar (1,144). Çalışmamızda da temporal ve masseter kas denervasyonunun özellikle zigomatik ark ve ilişkili bulunduğu maksilla ve premaksilla boyutları üzerindeki etkileri, zigomatik arkın yüz büyüme ve gelişiminin moderatörü olduğunu destekler niteliktedir. Kraniyofasiyal osteometrik ölçümler arasındaki farklılıkların saptanması amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonucunda, masseter ve temporal kas deney gruplarında nazal kemik, premaksilla, maksilla ve zigomatik arkın uzunluk ve genişlik oranları ile mandibula koronoid ve ramusa ait ölçümlerdeki azalma diğer gruplara oranla anlamlı düzeyde bulunmuştur. Ek olarak masseter grubunun temporal grup ile arasındaki farkların karşılaştırılması sonucunda, maksilla ve zigomatik ark genişliklerinin bu ilk grupta daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç, yukarıdaki

değişikliklerin masseterin origo ve insersiyoları bakımından maksilla ve zigomatik ark ile daha geniş bağlantısı gereğince ortaya çıktığını göstermektedir.

Mandibular büyüme ve adaptasyon, büyümenin erken çağlarında, geç dönemlere oranla kondiler büyüme hızları ve vektörlerinin değişimi ile daha fazla ilişkilidir. Mandibula büyümesi, üzerinde yerleşik olan kas gruplarının aktivitesi ve artiküler kartilajlar rehberliğinde meydana gelir (8). Masseter kas denervasyonu ile maksilla ve mandibula büyümesindeki biyomekanik güçlerin etkilerinin azaltılarak gelişim geriliğinin oranı ve yönü tespit edilmiştir. Masseter grubunda sağ ve sol ölçümlerin grup içinde birbiriyle ve büyüme oranlarının kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda, kafatabanı uzunluk ve genişlik ölçümleri ile mandibula uzunluk ölçümlerinde (KR, NR, QR, RC, ST, SW ve TW) değişiklik gözlenmemiştir. Nazal kemik, premaksilla, maksilla ve zigomaya ait değerlerde azalma ile paralel mandibula ramusun boyutlarında azalma saptanmıştır. Masseter kası sadece direkt ilişki içinde bulunduğu kemiklerin büyüme ve gelişimi üzerinde etki göstermiş olup, kasın gerisinde kalan hiçbir kraniyal yapıda değişiklik gözlenmemiştir.

Normal fonksiyon gören temporalis kasının varlığı, kafatası, zigoma ve mandibula gelişimlerini etkiler. Temporal kasın, yüzün orta ve üst 1/3 ünün transvers büyümesini etkilediği literatürde yapılan çalışmalar sonucunda rapor edilmiştir. Operasyonlar esnasında temporalis kasının elevasyonu veya transpozisyonu ile yapılan çeşitli prosedürler vasıtasıyla temporalis kas aktivitesinin geçici veya kalıcı bir şekilde değişmesi söz konusu olabilir (18,19,47,67,92). Çalışmamızda temporal kas denervasyonu yapılan sıçanların nazal kemik, premaksilla, maksilla, kafatabanı ölçümleri ile mandibula ramus ve koronoid ölçümlerinde anlamlı düzeyde azalma saptanmıştır. Masseter grubundan farklı olarak, temporal kas grubundaki ölçümlerde kafatabanı değişikliklerinin de ortaya çıkmasının bu kasın anatomik lokalizasyonundan ileri geldiği düşünülmüştür. Temporal kas, kraniyum ve mandibula arasında yerleşim gösterdiğinden fonksiyonları kraniyum ve mandibula büyümesini de etkiler. Orijini kraniyum üzerinde geniş yer tutan temporal kasın kafatası üzerindeki etkilerinin daha geniş olması bu bakımdan beklenen bir sonuçtur. Grup içinde yapılan sağ ve sol osteometrik ölçümlerin karşılaştırılması sonucunda tüm değerlerde (Y-Z hariç) belirgin azalmanın olması bunun bir göstergesidir. Masseter ve temporalis kas denervasyon gruplarında kondil ve koronoid

mesafesindeki artış (Y-Z) koronoid çıkıntının küçülerek ventrale doğru yer değiştirdiği ifade etmektedir. Literatürde temporal kas ve koronoid prosesin morfogenezinin başlangıç döneminden itibaren gelişimsel ilişkisi ortaya konulmuştur (145). Bu bakımdan çalışmamızdaki bu bulgu beklenen bir sonuçtur.

Sonuçlar toplu olarak yorumlandığında, masseter kas fonksiyonunun mandibula, premaksilla, maksilla, zigoma ve nazal kemik gelişiminde etkili olduğu, kraniyal kemiklerin gelişiminde direk etkisi olmadığı gözlenmiştir. Oysaki temporal kas kraniyum ve mandibula arasında yer alan ve kraniyumda geniş bir zemin üzerinden orijin alan bir kas olması itibari ile, fonksiyonunun ortadan kalkmasıyla hem kraniyal hem de mandibular kemik gelişiminde değişikliklerin olduğu görülmüştür. Bu durumda kastaki fonksiyon kaybı temel olarak direk ilişkili olduğu kemik yapıları etkilerken, bu yapılara komşu ve beraber fonksiyon göstermek zorunda olan diğer kemik yapılarıdaki gelişim geriliğinin uyum sağlamaya ve dengeyi korumaya yönelik olduğunu söylemek mümkündür. Literatürde değişik yöntemler ile yapılan mandibula elevatör kas fonksiyon değişikliklerinin, yüz ve çene transverse ve vertikal boyutları üzerinde önemli derecede etkili oldukları rapor edilmiş olup (69,70,78,91-93), çalışmamızda botulinum toksin tip A ile sağlanan kas kemodenarvasyonunun kraniyofasiyal büyüme ve gelişim sürecinde paralel sonuçlara yol açtığı gösterilmiştir. Ek olarak kas fonksiyonlarının cerrahi travma etkilerinden arındırılarak, sadece botulinum toksin enjeksiyonu ile ortadan kaldırılması, masseter ve temporal kasının kraniyofasiyal morfoloji ile olan ilişkisini daha objektif bir şekilde ortaya koymamızı sağlamıştır.

Gelişme çağındaki çocuk yaş grubunda botulinum toksini kullanımı ile ilgili literatürde çok sayıda yayın olduğu görülse de, bu yayınların hiçbirinde botulinum toksininin kemik büyüme ve gelişmesine dair etkileri hakkında bilgi olmaması çarpıcıdır. Bu bulgular çalışmamızda botulinum toksinini seçmemizde ikinci önemli nedeni oluşturmuştur.

Pubmed veri tabanından ["children" and "botulinum toxin"] anahtar kelimeleri girilerek yapılan taramalarda karşımıza 296 adet yayının çıktığı görülmektedir. Çocuklarda yapılan botulinum toksini ile ilgili çalışmalarda sıklıkla optimal doz, yan etkiler, enjeksiyon periyotları ve etkinin sağlandığı optimal yaş aralığı ele alınmıştır. Tüm bu çalışmalarda belirgin bir yan etkiye rastlanmadığı

belirtilmiştir (146,147). Botulinum toksin A'nın 12 yaş altı kullanımında kesin endikasyonu serebral palsi olmakla beraber, nörojenik mesane (148), konjenital veya obstetrik brakial pleksus hasarları (149), konjenital tortikollis deformitesi (150), konjenital esotropia (151) tedavileri başta olmak üzere geniş bir yelpazede kullanımda olduğu görülmektedir.

Bakheit ve ark.'nın çok merkezli retrograd çalışmasında 758 çocuk hastada yapılan 1594 botulinum toksin A tedavisi gözden geçirilerek doz miktarları ve aralıkları, etki profilleri belirlenmiştir. Botulinum toksin A'nın çocuklara uygulanmasında yan etkilerin görülme riskinin doza bağlı olduğu belirtilmiştir ve çocuklarda bu ajanın kullanımıyla ilgili bir rehber oluşturulmuştur (152). Yapılan çalışmalarda 5 aylıktan itibaren uygulamaların yapılabildiği görülmektedir (149,150).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Kraniyofasiyal kemik yapının büyüme ve gelişimi, bu sistemi regüle eden tüm faktörler açısından araştırılmıştır. Nöromusküler aktivitelerin değiştirilmesi sonrasında kemik yapıda oluşan farklılıklar ve kemik yapının adaptasyonları araştırılmakta; kraniyofasiyal kemik gelişimini kontrol ederek yönlendirmekte kullanılabilirliği ortaya konulmaya çalışılmaktadır. BOTOX® uygulaması ile kimyasal denervasyon sağlanıp kas aktiviteleri lokalize olarak azaltılarak kraniyofasiyal kemik gelişiminde üzerindeki etkileri kas fonksiyonlarının rolü belirlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere dayanarak büyüme ve gelişim sırasında kraniyofasiyal kemik yapıda ortaya çıkabilecek anormalliklerin düzeltilmesi yada şiddetinin azaltılması için kas fonksiyonlarının istenilen yönde değiştirilmesinin yararlı olacağı düşünülebilir. BOTOX® kullanımının cerrahi metotlara nazaran en belirgin avantajı uygulamanın noninvaziv ve reversible bir yöntem olmasıdır. Günümüzde botulinum toksin A'nın çocuklarda kullanımının giderek artmasıyla birlikte, kraniyofasiyal anomali ve deformitelerde kas fonksiyonlarının manipüle edilerek kraniyofasiyal gelişimin istenilen yönde değişmesini sağlamak fikri çok uzak olmamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Helms J.A., Schneider R.A. Cranial skeletal biology. *Nature*, 423:326-331, 2003.
2. Enlow D.H., Hans M.G. Overview of craniofacial growth and development. "Essentials of Facial Growth" (Ed. D.H. Enlow ve M.G. Hans) da, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1996, s. 1-17.
3. Enlow D.H. "The Human Face: An account of the postnatal growth and development of the craniofacial skeleton." Harper&Row, NewYork., 1968
4. Enlow D.H. Postnatal craniofacial growth. "Plastic Surgery" (Ed. J.G. McCarty) de,
5. Moss M.L. The primary role of functional matrices in facial growth. *Am J Orthod.* 55: 566-567, 1969.
6. Poswillo D. The aetiology and pathogenesis of craniofacial deformity. *Development.* 103:207-212, 1988.
7. Anous M.M., Gruber H. The human growth process from infancy to maturity. *Clinics in Plastic Surgery*, 17:7-17, 1990.
8. Moyers E.R., McNamara J.A. The effects of neuromuscular function on craniofacial growth. *Transactions of the thifid international orthodontic congress.* London:Staples. 63-74, 1975.
9. Cohen M.M. "Craniosynostosis: Diagnosis, Evaluation and Management" 2. baskı, Oxford University Press, New York, 2000.
10. Ohman J.C., Richtsmeier J.T. Perceptives on craniofacial growth. *Clinics in Plastic Surgery.* 21: 489-499, 1994.
11. Buschang P.H., Baume R., Nass G.G. A craniofacial growth maturity gradient of males and females between 4 and 16 years of age. *Am J Phys Anthropol.* 61: 373-381, 1983.
12. VandeBerg J.R., Buschang P.H., Hinton R.J. Absolute and relative growth of the rat craniofacial skeleton. *Arch Oral Biol.*, 49:477-484,2004.
13. Thorogood P., Ferretti P. Heads and Tales: recent advances in craniofacial development *Br Dent J.*, 173:301-306, 1992.
14. Hunter W.S. A study of the inheritance of craniofacial characteristics as seen in lateral cephalograms of 72 like-sexed twins. *Rep Congr Eur Orthod Soc.* 41:59-70, 1965.
15. Harris J.E., Kowalski C.J., Watnick S.S. Genetic factors in the shape of the craniofacial complex. *Angle Orthod.* 43:107-111, 1973.
16. Singleton D.A., Buschang P.H., Behrents R.G., Hinton R.J. Craniofacial growth in growth hormone-deficient rats after growth hormone supplementation. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.*, 130:69-82, 2006.

17. Ramirez-Yanez G.O., Smid J.R., Young W.G., Waters M.J. Influence of growth hormone on the craniofacial complex of transgenic mice. *Eur J Orthod.*, 27:494-500, 2005.
18. Boyd T.G., Castell W.A., Huelke D.F. Removal of temporalis muscle from its origin; The effects on the size and shape of the coronoid process. *J Dent Res.* 46: 997-1001, 1967.
19. Warner WM. The relationship of the temporal muscle to the form and architecture of the skull of the rat. *Am J Orthod.*, 60:89, 1971.
20. Moss M.L. Neurotrophic processes in orofacial growth. *J Dent Res.*, 50: 1492-1494, 1971.
21. Koski K. Some characteristics of craniofacial growth cartilages. "Craniofacial Growth in Man" (Ed. R.E. Moyers ve W.M. Krogman)'de, Pergamon Press, Oxford, 1971.
22. van Limborg J. The role of genetic and local environmental factors in the control of postnatal craniofacial morphogenesis. *Acta Morphol. Neerl. Scand.*, 10:37-47, 1972.
23. Fukada E., Yasuada I. On the piezoelectric effect of bone. *J Physiol Soc Jpn.*, 12: 1158, 1957.
24. Bassett C.A., Biologic significance of piezoelectricity. *Calcif. Tissue Res.*, 1:252-272, 1968.
25. Becker R.O. The bioelectric factors controlling bone structure. "Bone Biodynamics" (Ed. C.A.L. Bassett ve C.H. Bachman)' de, Little&Brown, Boston, 1964, s-209-232.
26. Enlow D.E. Rotations of the mandible during growth: in determinants of mandibular form. "Center for Human Growth and Development" (Ed. J.A. McNamara)'da, University of Michigan, Ann Arbor, 1975, s-65-76.
27. Cutting C.B., McCarthy J.G, Knize D.M. Repair and grafting of bone. "Plastic Surgery" (Ed. J.G. McCarthy)'de,
28. Ranly D.M. Craniofacial growth. *Dent Clin North Am.*, 44: 457-470, 2000.
29. Bjork A. Variations in the growth pattern of the human mandible: longitudinal radiographic study by implant method. *J Dent Res.*, 42:400-411, 1963.
30. Yamada K., Hanada K., Hayashi T., Ito T. Condylar bony change, disc displacement, and signs and symptoms of TMJ disorders in orthognathic surgery patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 91:603-610, 2001.
31. Vinter I., Krmpotic-Nemanic J., Ivankovic D., Jalsovec D. The influence of the dentition on the shape of the mandible. *Coll Antropol.*, 21:555-560, 1997.
32. Darwis W.E., Messer L.B., Thomas C.D. Assessing growth and development of the facial profile. *Pediatr Dent.*, 25:103-108, 2003.
33. Hennessy R.J., Moss J.P. Facial growth: separating shape from size. *Eur J Orthod.*, 23:275-285, 2001.

34. Ferrario V.F., Sforza C., Poggio C.E., Schmitz J.H. Soft-tissue facial morphometry from 6 years to adulthood: a three-dimensional growth study using a new modeling. *Plast Reconstr Surg.*, 103:768-778, 1999.
35. Gasson N., Lavergne J. The maxillary rotation: Its relation to the cranial base and the mandibular corpus. An implant study. *Acta Odontol Scand.*, 35:89-94, 1977.
36. Bardach J., Kelly K.M. Role of animal models in experimental studies of craniofacial growth following cleft lip and palate repair. *Cleft Palate Journal*, 25: 103-113; 1988.
37. Hermann N.V., Kreiborg S., Darvann T.A., Jensen B.L., Dahl E., Bolund S. Early craniofacial morphology and growth in children with unoperated isolated cleft palate. *Cleft Palate Craniofac J.*, 39:604-622, 2002.
38. Bardach J. The influence of cleft lip repair on facial growth. *Cleft Palate J.*, 27: 76-78, 1990.
39. Bardach J., Mooney M., Juraha G. A comparative study of facial growth cleft lip repair with or without soft-tissue undermining: an experimental study in rabbits. *Plast. Reconstr. Surg.*, 69: 745-753, 1982.
40. Bardach J. , Kelly K. The influence of lip repair with and without soft-tissue undermining on facial growth in beagles. *Plast. Reconstr. Surg.*, 82:747-755, 1988.
41. Kreiborg S., Jensen B.L., Moller E., Björk A. Craniofacial growth in a case of congenital muscular dystrophy. *Am J Orthod.*, 74: 207-215; 1978.
42. Yu C.C., Wong F.H., Lo L.J., Chen Y.R. Craniofacial deformity in patients with uncorrected congenital muscular torticollis: an assessment from three-dimensional computed tomography imaging. *Plast Reconstr Surg.*, 113:24-33, 2004.
43. Munro I.R. The effect of total maxillary advancement on facial growth. *Plast Reconstr Surg.*, 62: 751- 762, 1978.
44. Watzek G., Grundschober F., Plenk H., Eschberger J. Experimental investigations into the clinical significance of bone growth at viscerocranial sutures. *J. Maxillofac. Surg.*, 10:61-79, 1982.
45. Resnick J.I., Kinney B.M., Kawamoto H.K. The effect of rigid internal fixation on cranial growth. *Ann Plast Surg.*, 25: 372-374; 1990
46. Persing J.A., Babler W.J., Jane J.A., Duckworth P.F. Experimental unilateral coronal synostosis in rabbits. *Plast. Reconstr. Surg.*, 77: 369-377, 1986.
47. Amis V. The relation of the temporal muscle to the form of the coronoid process in the cat. *Am J Phys Antropol.*, 17: 99-108, 1959.
48. Kant Y.L., Barlett S.P., Yaremchuk M.J., Grossman R.F., Udupa J.K., Whitaker L.A. An experimental study on the effect of rigid fixation on the developing craniofacial skeleton, 87:229-235, 1991.
49. Murray P.D., Drachman D.B. The role of movement in the development of joints and related structures: the head and neck in the chick embryo. *J Embryol Exp Morphol.*, 22:349-371, 1969.

50. Moss M.L. Functional cranial analysis and the functional matrix. *Int J Orthod.*, 17:21-31, 1979.
51. Hall B.K. Selective proliferation and accumulation of chondroprogenitor cells as the mode of action of biomechanical factors during secondary chondrogenesis. *Teratology*, 20:81-91,1979.
52. Humphrey T. The development of human fetal activity and its relation to postnatal behavior. *Adv Child Dev Behav.*, 5:1-57,1970.
53. Humphrey T. Development of oral and facial motor mechanisms in human fetuses and their relation to craniofacial growth. *J Dent Res.*, 50:1428-1441, 1971.
54. Herring S.W, Lakars T.C. Craniofacial development in the absence of muscle contraction *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology* 1:341-357,1981.
55. Hall B.K. The origin of cartilage and bone from common stem cells. *Calcif Tissue Res.* ,Suppl:147, 1970.
56. Hert J. Acceleration of the growth after decrease of load on epiphyseal plates by means of spring distractors. *Folia Morphol.*, 17:194-203,1969.
57. Warrell E, Taylor J.F. The role of periosteal tension in the growth of long bones. *J Anat.*, 128:179-184,1979.
58. Kiliaridis S., Engström C., Thilander B. The relationship between masticatory function and craniofacial morphology. I. Acephalometric longitudinal analysis in the growing rat fed a soft diet. *Eur J Orthod.*, 7:273-283, 1983.
59. Engstrom C, Kiliaridis S, Thilander B. The relationship between masticatory function and craniofacial morphology. II. A histological study in the growing rat fed a soft diet. *Eur J Orthod.*, 8:271-279, 1986.
60. Watt D.G., Williams C.H. The effects of the physical consistency of food on the growth and development of the mandible and the maxilla of the rat. *Am J Orthod.*, 37:895-928, 1951.
61. Kiliaridis S., Bresin A., Holm J., Strid K.G. Effects of masticatory muscle function on bone mass in the mandible of the growing rat. *Acta Anat.*, 155: 200-205, 1996.
62. Atchley W.R., Herring S.W., Riska B., Plummer A.A. Effects of the muscular dysgenesis gene on developmental stability in the Mouse mandible. *J Craniofac Genet Dev Biol.*, 4:179-89,1984.
63. Bresin A. Effects of masticatory muscle function and bite-raising on mandibular morphology in the growing rat. *Swed Dent J Suppl.*, 150:1-49,2001.
64. Bresin A., Bagge U., Kiliaridis S. Adaptation of normal and hypofunctional masseter muscle after bite-raising in growing rats. *Eur J Oral Sci.*, 108:493-503, 2000.
65. Yamaoka M., Okafuji N., Furusawa K., Hasumi-Nakayama Y., Hayama H., Yamada A.S., Kurihara S. Alteration of the angle of the coronoid process in prognathism. *J Oral Rehabil.*, 28:479-484,2001.

66. Navarro M., Delgado E., Monje F. Changes in mandibular rotation after muscular resection. Experimental study in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.*, 108:367-379,1995.
67. Horowitz S.L., Shapiro H.H. Modifications of mandibular architecture following removal of temporalis muscle in the rat. *J Dent Res.*, 30:276-280,1951.
68. Washburn S.L. The relation of the temporal muscle to the form of skull. *Anat. Rec.*, 99: 239-248,1947.
69. Brennan M., Antonyshyn O. The effects of temporalis muscle manipulation on skull growth: an experimental study. *Plast Reconstr Surg.*, 97:13-24,1996.
70. Horowitz S.L., Shapiro H.H. Modification of skull and jaw architecture following removal of the masseter muscle in the rat. *Am J Phys Anthropol.*, 13:301-308,1955.
71. Hohl T.H. Masticatory muscle transposition in primates: effects on craniofacial growth. *J Maxillofac Surg.*, 11:149-156,1983.
72. Katsaros C. Masticatory muscle function and transverse dentofacial growth. *Swed Dent J.*, 151:1-47,2001.
73. Ueda H.M., Ishizuka Y., Miyamoto K., Morimoto N., Tanne K. Relationship between masticatory muscle activity and vertical craniofacial morphology. *Angle Orthod.*, 68:233-238,1998.
74. Dysart P.S., Harkness E.M., Herbison G.P. Growth of the humerus after denervation. An experimental study in the rat. *J Anat.*, 167:147-159,1989.
75. Bardosi A., Goebel H., Stennert E. The ultrastructure of normal and denervated human facial muscle. *Plast Recon Surg.*, 79: 171-176,1987.
76. Tang X.F., Zhi K.Q., Huang Y.D., Wen Y.M. The study on the regeneration of skeletal muscles after denervation. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.*, 22:89-92, 2004.
77. Bobinac D., Malnar-Dragojevic D., Bajek S., Soic-Vranic T., Jerkovic R. Muscle fiber type composition and morphometric properties of denervated rat extensor digitorum longus muscle. *Croat Med J.*, 41:294-297,2000.
78. Iwasaki T. A histological study on changes in the attachment of deep layer of the masseter muscle after denervation of the masseteric nerve. *Nippon Kyosei Shika Gakkai Zasshi.*, 49:118-131,1990.
79. Washburn S.L. The effect of facial paralysis on the growth of the skull rat and rabbit. *Anat. Rec.*, 94:163-168,1946.
80. Jarabak J.R., Kamins M., Vehe K. Effect of unilateral resection of facial nerve on facial growth of the rat. *J. Dent. Res.*, 28:654-655,1949.
81. Sinsel N.K., Opdebeeck H., Guelinckx P.J. The effect of unilateral partial facial paralysis and muscle ablation on craniofacial growth and development: an experimental study in the rabbit. *Plast Reconstr Surg.*, 102:1894-1912, 1998.

82. Meinertz T. Das süperfizielle fazialisgebiet der nager. IV Die Muriden. 1. Epimys Norvegicus (Erxleben) und Cricetus cricetus (L) Gegenbaurs Morph Jahrb., 87: 254-324, 1942.
83. Bukovic D. Jr, Radionov D., Verzak Z., Lulic-Dukic O., Azinovic Z., Bagic I. Effect of unilateral function on craniofacial growth. Coll Antropol., 21:217-28, 1997.
84. Ghassemi-Tary B., Cua-Benward G.B. The effect of inferior alveolar neurotomy on mandibular growth in the rat. Clin Pediatr Dent., 17:19-23,1992.
85. Duker J., Harle F. The influence of unilateral operations, with reference to the soft tissue only, on the growth of the skull: experimental studies on rats. J Maxillofac Surg., 2:44-48,1974.
86. Byrd K.E. Craniofacial sequeale of lesions to facial and trigeminal motor nuclei in growing rats. Am. J. Phys. Antropol., 76:87-103, 1988.
87. Behrents R.G., Johnston L.E. The influence of the trigeminal nerve on facial growth and development. Am. J. Orthod., 85:199-206,1984.
88. Schottstaedt ER, Larsen LJ, Bost FC. Complete muscle transposition. J Bone Joint Surg Am., 37-A:897-918,1955.
89. Hamacher E.N. Sternomastoid muscle transplants. Plast. Reconstr. Surg., 43:1-4,1969.
90. Dingman R.O. Sternocleidomastoid muscle transplant to masseter area. Plast. Reconstr. Surg., 43:5-12,1969.
91. Holtgrave E.A., Muller R. Cephalometric studies on the mandible following the dorsal transposition of the masseter. An experimental animal study. Fortschr Kieferorthop., 54:268-275,1993.
92. Guelinckx P., Dechow P.C., Vanrusselt R., Carlson D.S. Adaptations in the temporalis muscles of rabbits after masseter muscle removal. J. Dent Res., 65:1294-1299,1986.
93. Yellich G.M., McNamara J.A., Ungerleider J.C. Muscular and mandibular adaptation after lenghtening, detachment and reattachment of the masseter muscle. J. Oral: Surg. 39:656-665,1981.
94. da Silva Filho O.G., Valladares Neto J., Capelloza Filho L., de Souza Freitas J.A. Influence of lip repair on craniofacial morphology of patients with complete bilateral cleft lip and palate. Cleft Palate Craniofac J., 40:144-153,2003.
95. Horswell B.B., Levant B.A. Craniofacial growth in unilateral cleft lip and palate: Skeletal growth from eigth to eighteen years. Cleft Palate J., 25:114-121,1988.
96. Bonin B., Picard A., Stricker M. Development of the maxilla in patients with complete unilateral cleft palate surgically treated by a periosteal transplantation technic. A retrospective study of 15 surgical cases with an 18 year follow-up. Rev Stomatol Chir Maxillofac., 102:162-8,2001.
97. Levitt T., Long R.E. Jr, Trotman C.A. Maxillary growth in patients with clefts following secondary alveolar bone grafting. Cleft Palate Craniofac J., 36:398-406,1999.

98. Bardach J., Kelly K.M., Salyer K.E. The effects of lip repair with and without soft-tissue undermining and delayed palate repair on maxillary growth: an experimental study in beagles. *Plast Reconstr Surg.*, 94:343-351,1994.
99. Paydarfar J.A., Paniello R.C. Functional study of four neurotoxins as inhibitors of post-traumatic nerve regeneration. *Laryngoscope.*, 111:844-850,2001.
100. Nguyen T., Paniello R.C. Chemodenervation of the rat hemilarynx with phenol. *Ann Otol Rhinol Laryngol.*, 109:355-359,2000.
101. Harrison A.R. Chemodenervation for facial dystonias and wrinkles. *Curr Opin Ophthalmol.*, 14:241-245,2003.
102. McLoon L.K., Falkenberg J.H., Dykstra D., Iaizzo P.A. Doxorubicin chemomyectomy as a treatment for cervical dystonia: histological assessment after direct injection into the sternocleidomastoid muscle. *Muscle Nerve.*, 21:1457-1464,1998.
103. Shaari C.M., Sanders I. Quantifying how location and dose botulinum toxin injections affect muscle paralysis. *Muscle&Nerve* 16: 964-969, 1993.
104. Childers M.K. Targeting the neuromuscular junction in skeletal muscles. *Am J Phys Med Rehabil.*, 83:38-44,2004.
105. Lam S.M. The basic science of botulinum toxin. *Facial Plast Surg Clin North Am.*, 11:431-438,2003.
106. Aoki K.R. Pharmacology and immunology of botulinum toxin serotypes. *J Neurol.*, 248:3-10,2001.
107. Montecucco C., Molgo J. Botulinal neurotoxins: revival of an old killer. *Curr Opin Pharmacol.*, 5:274-279,2005.
108. Pestronk A., Drachman D.B., Griffin J.W. Effect of botulinum toxin on trophic regulation of acetylcholine receptors. *Nature.* 264; 23/30: 787-789, 1976.
109. Thakker M.M., Rubin P.A. Pharmacology and clinical applications of botulinum toxins A and B. *Int Ophthalmol Clin.*, 44:147-163,2004.
110. Bentsianov B., Zalvan C., Blitzer A. Noncosmetic uses of botulinum toxin. *Clin Dermatol.*, 22:82-88,2004.
111. Charles P.D. Botulinum neurotoxin serotype A: a clinical update on non-cosmetic uses. *Am J Health Syst Pharm.*, 15:11-23,2004.
112. Huang, W., Foster, J. A., Rogachefsky A. S. Pharmacology of botulinum toxin. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 43: 249-259, 2000.
113. Aoki K.R., Peng K., Siddiqui T., Gruber L., Spanoyannis A. Pharmacology of BOTOX purified neurotoxin complex: local versus systemic muscle activity measurement in mice. *European Journal of Neurology.*, 2: 3-9, 1995.
114. Kim H.S., Hwang J.H., Jeong S.T., Lee Y.T., Lee P.K., Suh Y.L., Shim J.S. Effect of muscle activity and botulinum toxin dilution volume on muscle paralysis. *Dev Med Child Neurol.*, 45:200-206,2003.
115. Al-Ahmad H.T., Al-Qudah M.A. The treatment of masseter hypertrophy with botulinum toxin type A. *Saudi Med J.*, 27:397-400,2006.

116. Arikan O.K., Tan F.U., Kendi T., Koc C. Use of botulinum toxin type A for the treatment of masseteric muscle hypertrophy. *J Otolaryngol.*, 35:40-43,2006.
117. Choe S.W., Cho W.I., Lee C.K., Seo S.J. Effects of botulinum toxin type A on contouring of the lower face. *Dermatol Surg.*, 31:502-507,2005.
118. To E.W., Ahuja A.T., Ho W.S., King W.W., Wong W.K, Pang P.C., Hui A.C. A prospective study of the effect of botulinum toxin A on masseteric muscle hypertrophy with ultrasonographic and electromyographic measurement. *Br J Plast Surg.* 2001 Apr;54(3):197-200,2001.
119. von Lindern J.J., Niederhagen B., Appel T., Berge S., Reich R.H. Type A botulinum toxin for the treatment of hypertrophy of the masseter and temporal muscles: an alternative treatment. *Plast Reconstr Surg.*, 107:327-332,2001.
120. Filippi G.M., Errico P., Santarelli R., Bagolini B., Manni E. Botulinum A toxin effects on rat jaw muscle spindles. *Acta Otolaryngol.*, 113:400-445,1993.
121. Kim N.H., Chung J.H., Park R.H., Park J.B. The use of botulinum toxin type A in aesthetic mandibular contouring. *Plast Reconstr Surg.*, 115:919-930,2005.
122. Karacalar A., Yilmaz N., Bilgici A., Bas B., Akan H. Botulinum toxin for the treatment of temporomandibular joint disk disfigurement: clinical experience. *J Craniofac Surg.*, 16:476-481,2005.
123. Schwartz M., Freund B. Treatment of temporomandibular disorders with botulinum toxin. *Clin J Pain.*, 18:198-203,2002.
124. Freund B., Schwartz M., Symington J.M. Botulinum toxin: new treatment for temporomandibular disorders. *Br J Oral Maxillofac Surg.*, 38:466-471,2000.
125. Daelen B., Thorwirth V., Koch A. Treatment of recurrent dislocation of the temporomandibular joint with type A botulinum toxin. *Int J Oral Maxillofac Surg.*, 26:458-460,1997.
126. Borodic G.E., Ferrante R., Pearce L.B, Smith K. Histologic assessment of dose-related diffusion and muscle fiber response after therapeutic botulinum A toxin injections. *Mov Disord.*, 9:31-39,1994.
127. Hsu T.S., Dover J.S., Arndt K.A. Effect of volume and concentration on the diffusion of botulinum exotoxin A. *Arch Dermatol.*, 140:1351-1354,2004.
128. Drachman D.B., Johnston D.M. Neurotrophic regulation of dynamic properties of skeletal muscle: effects of botulinum toxin and denervation. *J Physiol.*, 252:657-667,1975.
129. Ma J., Elsaidi G.A., Smith T.L., Walker F.O., Tan K.H., Martin E., Koman L.A., Smith B.P. Time course of recovery of juvenile skeletal muscle after botulinum toxin A injection: an animal model study. *Am J Phys Med Rehabil.*, 83:774-780,2004.
130. Mineta M. Effects of denervation of the masseter nerve and bite raising on the masseter muscle of developing rats. *Gifu Shika Gakkai Zasshi.*, 17:32-73,1990.
131. Dow D.E., Cederna P.S., Hassett C.A., Kostrominova T.Y., Faulkner J.A., Dennis R.G. Number of contractions to maintain mass and force of a denervated rat muscle. *Muscle Nerve.*, 30:77-86,2004.

132. Carter G.M., Harkness E.M. Alterations to mandibular form following motor denervation of the masseter muscle. An experimental study in the rat. *J Anat.*, 186:541-548,1995.
133. Rosales R.L., Arimura K., Takenaga S., Osame M. Extrafusal and intrafusal muscle effects in experimental botulinum toxin-A injection. *Muscle Nerve.*, 19:488-496,1996
134. Xu J.G., Gu Y.D. Experimental study of morphology and electrophysiology on denervated skeletal muscle. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.*, 13:202-205,1999.
135. Hu S.N., Xu J.G., Gu Y.D., Li J.F. Ultrastructural changes after denervation of different muscles. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.*, 16:44-47,2002.
136. Borisov A.B., Huang S.K., Carlson B.M. Remodeling of the vascular bed and progressive loss of capillaries in denervated skeletal muscle. *Anat Rec.*, 258:292-304,2000.
137. Lu D.X., Huang S.K., Carlson B.M. Electron microscopic study of long-term denervated rat skeletal muscle. *Anat Rec.*, 248:355-365,1997.
138. Ito G., Mitani S., Kim J.H. Effect of soft diets on craniofacial growth in mice. *Anat Anz.*, 165:151-166,1988.
139. Kasai K., Richards L.C., Kanazawa E., Iwasawa T. Cephalometric analysis of masseter muscle and dentoskeletal morphology in dentate and edentulous humans. *J Nihon Univ Sch Dent.*, 39:78-85,1997.
140. Kitai N., Fujii Y., Murakami S., Furukawa S., Kreiborg S., Takada K. Human masticatory muscle volume and zygomaticomandibular form in adults with mandibular prognathism. *J Dent Res.* 81: 752-756; 2002.
141. Raadsheer M.C., Kiliaridis S., van Eijden T.M., van Ginkel F.C., Prahl-Anderson B. Masseter muscle thickness in growing individuals and its relation to facial morphology. *Arch Oral Biol.*, 41: 323-332,1996.
142. Kiliaridis S., Shyu B.C. Isometric muscle tension generated by masseter stimulation after prolonged alteration of the consistency of the diet fed to growing rats. *Arch Oral Biol.*, 33:467-472,1988.
143. Garner L.D. Cephalometric analysis of Berry-Treacher-Collins syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.*, 23:320-327 ,1967.
144. Campo A.F., Elizondo M.M., Magnelli M.L., Valadez A.S., Ontiveros D.S. Craniofacial development in rats with early resection of the zygomatic arch. *Plast Reconstr Surg.*, 95: 486-495; 1995.
145. Spyropoulos M.N. The morphogenetic relationship of the temporal muscle to the coronoid process in human embryos and fetuses. *Am J Anat.*, 150:395-409,1977.
146. Bertrand H., Forin V. Botulinum toxin type A in children: evaluation of indications with a review of the literature. *Ann Readapt Med Phys.*, 46:346-352,2003.

- 147.** Kinnett D. Botulinum toxin A injections in children: technique and dosing issues. *Am J Phys Med Rehabil.*, 83:59-64,2004.
- 148.** Mokhless I., Gaafar S., Fouda K., Shafik M., Assem A. Botulinum a toxin urethral sphincter injection in children with nonneurogenic neurogenic bladder. *J Urol.*, 176:1767-1770,2006.
- 149.** DeMatteo C., Bain J.R., Galea V., Gjertsen D. Botulinum toxin as an adjunct to motor learning therapy and surgery for obstetrical brachial plexus injury. *Dev Med Child Neurol.*, 48:245-252,2006.
- 150.** Oleszek J.L., Chang N., Apkon S.D., Wilson P.E. Botulinum toxin type a in the treatment of children with congenital muscular torticollis. *Am J Phys Med Rehabil.*, 84:813-816,2005.
- 151.** Ruiz M.F., Alvarez M.T., Sanchez-Garrido C.M., Hernaez J.M., Rodriguez J.M. Surgery and botulinum toxin in congenital esotropia. *Can J Ophthalmol.*, 39:639-649, 2004.
- 152.** Bakheit A.M., Severa S., Cosgrove A., Morton R., Roussounis S.H., Doderlein L., Lin J.P. Safety profile and efficacy of botulinum toxin A (Dysport) in children with muscle spasticity. *Dev Med Child Neurol.*, 43:234-238,2001.