

Die Pathogenese der Titanunverträglichkeit

Teil 1

15.05.2013, 15.00 Uhr

Dr. rer. nat. Sabine Schütt

Unverträglichkeit von Zahnersatzmaterialien

Toxische Belastungen



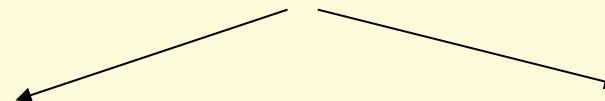
Dosisabhängigkeit
geringe individuelle
Komponente



Belastung
durch Materialien
Multielementanalyse
im Speichel

Endogene Belastung
DMPS-Test
Urinanalysen

Individuelle immunologische Überempfindlichkeiten



allergisch bedingt

Typ IV-Allergie auf
Metalle, Kunststoffe u.a.
LTT
oder
Effektorzelltypisierung

Typ I-Allergie auf
Acrylate u.a.
BDT

nicht allergisch bedingt

Erhöhte Entzündungs-
Neigung → Titan-
Überempfindlichkeit
Titanstimulationstest
Genetische Entzündungs-
neigung

Enzymdefekte
Störung der Schleimhaut-
immunität
Immundefekte u.a.

Unverträglichkeit von Zahnersatzmaterialien

Toxische Belastungen



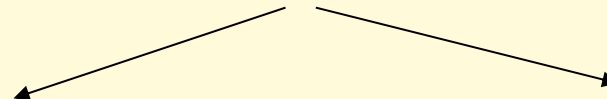
Dosisabhängigkeit
geringe individuelle
Komponente



Belastung
durch Materialien
Multielementanalyse
im Speichel

Endogene Belastung
DMPS-Test
Urinanalysen

Individuelle immunologische Überempfindlichkeiten



allergisch bedingt

Typ IV-Allergie auf
Metalle, Kunststoffe u.a.
LTT
oder
Effektorzelltypisierung

Typ I-Allergie auf
Acrylate u.a.
BDT

nicht allergisch bedingt

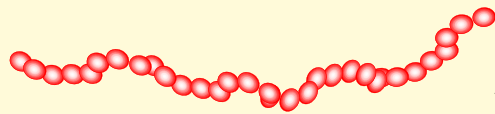
Erhöhte Entzündungs-
Neigung → Titan-
Überempfindlichkeit
Titanstimulationstest
Genetische Entzündungs-
neigung

Enzymdefekte
Störung der Schleimhaut-
immunität
Immundefekte u.a.

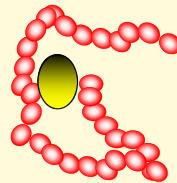
Was passiert bei der Typ IV-Allergie auf Metalle ?

Metalle sind Haptene (Halbantigene)

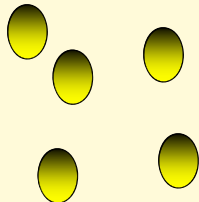
normales
körpereigenes Protein



Bindung von Haptenen
an diese Proteine



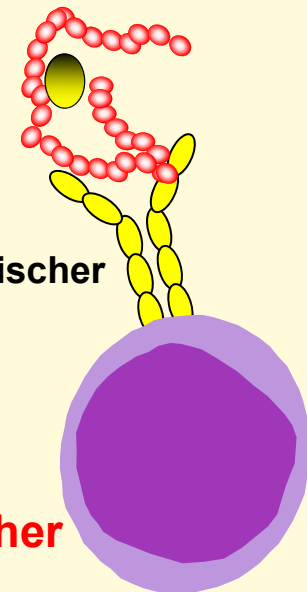
Metallionen
Acrylatmonomere



Immunologisch
„NEUES Protein“,
da neue Struktur

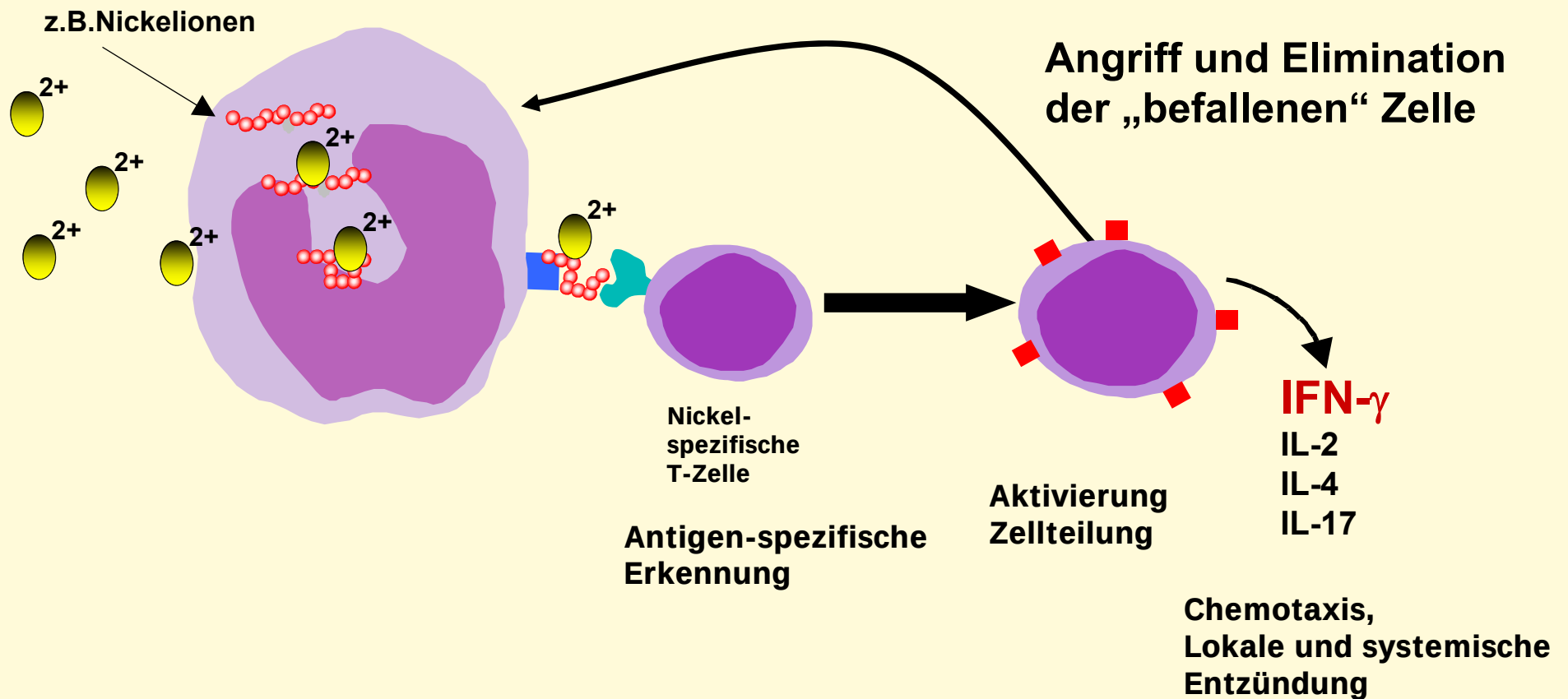
Dieses wird u.U. vom
Immunsystem als fremd
erkannt.

„Allergen“-spezifischer
T-Zellrezeptor

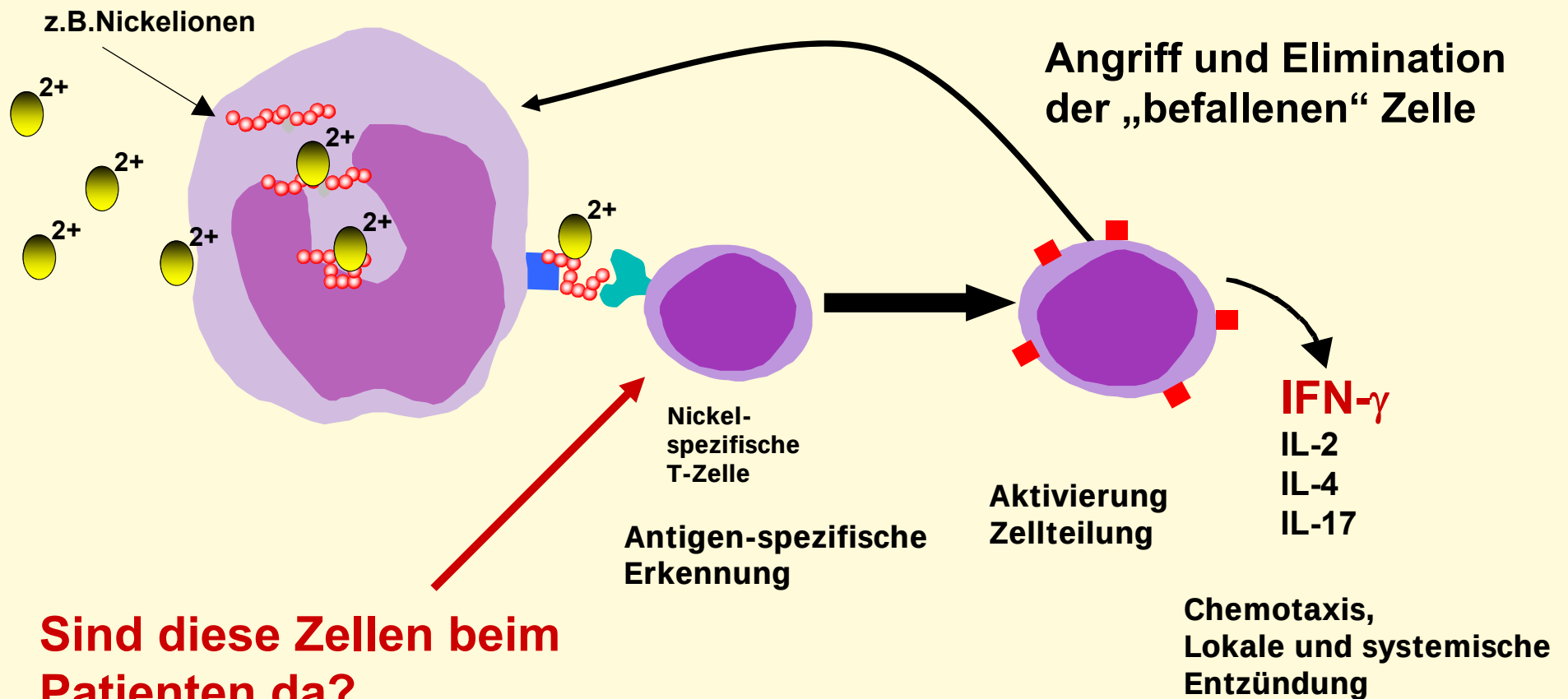


Allergenspezifischer
T-Lymphozyt

Allergie bedeutet, dass der Patient TH1-Gedächtniszellen bildet, die das Allergen als fremd erkennen!



Allergie bedeutet, dass der Patient TH1-Gedächtniszellen bildet, die das Allergen als fremd erkennen!



Sensibilisierungen auf Kobalt und Nickel sind häufig

Ärztlicher Befundbericht			
Patient	Geburtsdatum	Tagesnummer	IMD Berlin-Potsdam MVZ GbR Nicolaistraße 22, 12247 Berlin Telefon: +49 30 77001-220
Eingang	23.04.2013	Ausgang	30.04.2013
Versicherung		Privat	
Untersuchung / Material : Lymphozytentransformationstest Metalle (Heparinblut)			
	SI		SI
Chrom	1,0	Quecksilber	1,0
Kobalt	10,4	Gold	1,0
Palladium	1,0	Nickel	7,5
Silber	1,0	Cadmium	1,0
Aluminium	1,0	Ethylquecksilber	1,0
Zinn	1,0	Molybdän	1,0
Kupfer	1,0	Platin	1,0
Leerwert (Negativkontrolle)	1380 (Normalwert < 4000 cpm)		
Positivkontrolle (Antigen)	25052 cpm	18,2	
Mitogenkontrolle (PWM)	34561 cpm	25,1	

Hinweis: Die in Amalgam enthaltenen Legierungsmetalle sind Quecksilber, Silber, Kupfer und Zinn. Diese wurden im Profil einzeln getestet (siehe oben).

Ergebnisse von > 8 bei der Mitogenkontrolle PWM und > 3 bei der Antigenkontrolle (Tetanus/Candida/Influenza) sichern die Auswertbarkeit der Untersuchung.

Die angegebenen Werte neben den Balken sind die Stimulationsindizes (SI) für das jeweilige Allergen (Mittelwert). Dieser ergibt sich aus dem Mittelwert von 3 isoliert untersuchten Stimulationsansätzen. Dieser Wert ist zusätzlich als Balken dargestellt. Der Stimulationsindex ist der Quotient aus der allergeninduzierten- und der unstimulierten Thymidineinbaurate (Leerwert in cpm). Ein SI > 3 bedeutet eine mehr als dreifache Aktivierung im Vergleich zum Leerwert und beweist die Existenz von zirkulierenden allergenspezifischen T-Zellen im Patientenblut (positives Ergebnis, zelluläre Sensibilisierung). Ein SI < 2 gilt als sicher negativ. Ergebnisse zwischen 2 und 3 sind als grenzwertig anzusehen (schwache bzw. fragliche Sensibilisierung), die ggf. kontrolliert werden sollten.

Befund:

Im LTT Nachweis einer zellulären Sensibilisierung im Sinne einer Typ IV- Immunreaktion gegenüber Kobalt und Nickel.

Bei der Expositionsvermeidung gegenüber Kobalt muss neben Kobalt-haltigen NEM-Legierungen auch an Modeschmuck und Gebrauchsgegenstände gedacht werden. Gegenüber den weiterhin getesteten Metallen liegt keine Sensibilisierung vor.

Eine Sensibilisierung auf Silber und auch Methylquecksilber können für eine „Amalgamallergie“ verantwortlich sein !

Untersuchung / Material : **Lymphozytentransformationstest Amalgam** (Heparinblut)

Amalgam - Legierungsmetalle

	SI
Quecksilber	1,0
Silber	6,7
Zinn	1,1
Kupfer	1,0

Organische Quecksilberverbindungen

	SI
Ethylquecksilber	1,0
Methylquecksilber	6,3
Phenylquecksilber	1,0

Leerwert (Negativkontrolle)	1902	(Normalwert < 4000 cpm)
Positivkontrolle (Antigen)	23059 cpm	12,1
Mitogenkontrolle (PWM)	76702 cpm	40,3

Ergebnisse von > 8 bei der Mitogenkontrolle PWM und > 3 bei der Antigenkontrolle (Tetanus/Candida/Influenza) sichern die Auswertbarkeit der Untersuchung .

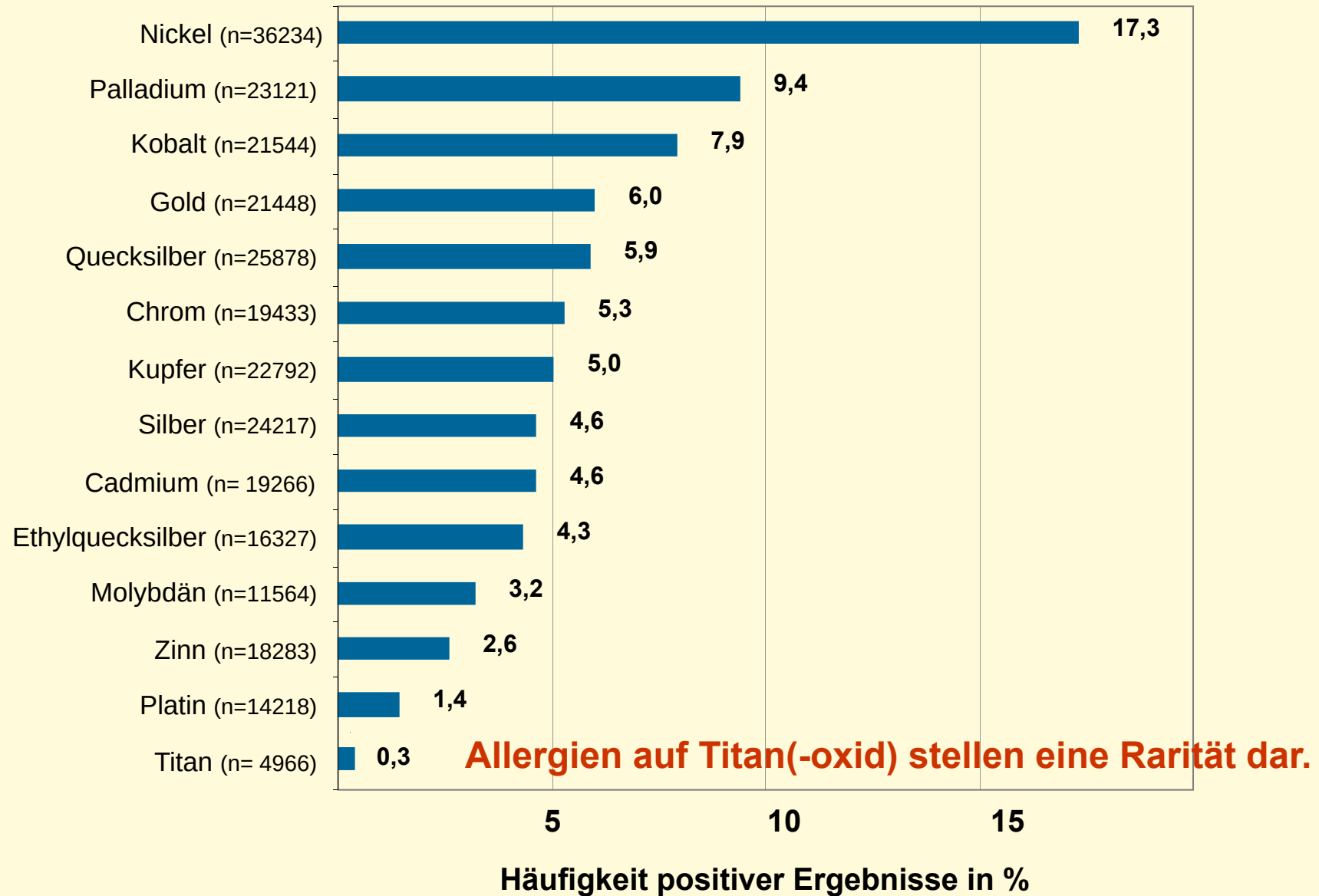
Die angegebenen Werte neben den Balken sind die Stimulationsindizes (SI) für das jeweilige Allergen (Mittelwert). Dieser ergibt sich aus dem Mittelwert von 3 isoliert untersuchten Stimulationsansätzen. Dieser Wert ist zusätzlich als Balken dargestellt. Der Stimulationsindex ist der Quotient aus der allergeninduzierten- und der unstimulierten Thymidineinbaurate (Leerwert in cpm). Ein SI > 3 bedeutet eine mehr als dreifache Aktivierung im Vergleich zum Leerwert und beweist die Existenz von zirkulierenden allergenspezifischen T-Zellen im Patientenblut (positives Ergebnis, zelluläre Sensibilisierung). Ein SI < 2 gilt als sicher negativ. Ergebnisse zwischen 2 und 3 sind als grenzwertig anzusehen (schwache bzw. fragliche Sensibilisierung), die ggf. kontrolliert werden sollten.

Befund:

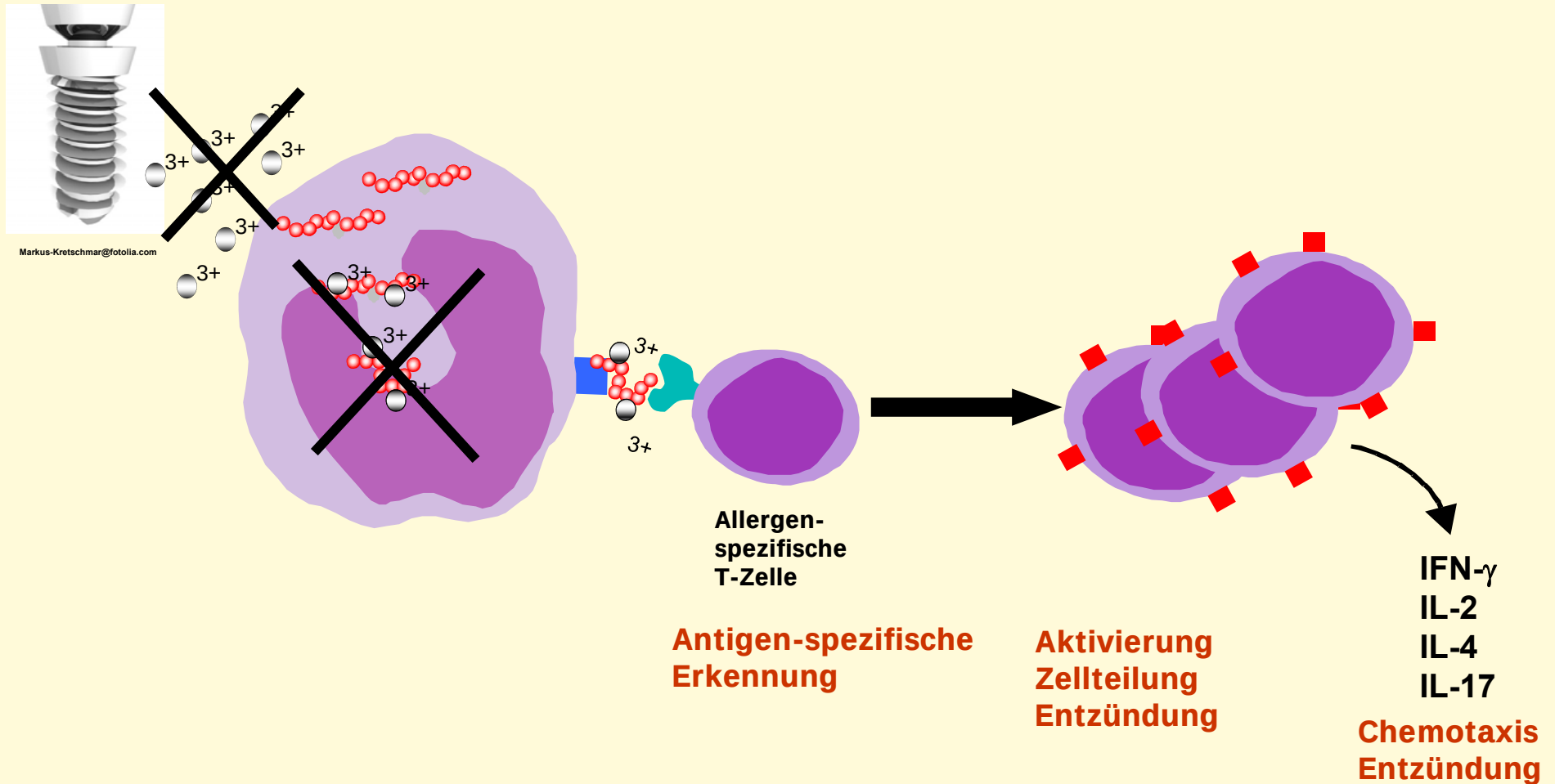
Im LTT Nachweis einer zellulären Sensibilisierung im Sinne einer Typ IV- Immunreaktion gegenüber Silber und Methylquecksilber.

Methylquecksilber kann durch Beitrag von Darmbakterien aus anorg. Quecksilber entstehen. Somit ist nicht auszuschließen, dass eine Amalgam-bedingte klinische Symptomatik auf Grund einer Methylquecksilbersensibilisierung besteht. Eine Silbersensibilisierung kann Ursache einer allergisch bedingten Amalgamüberempfindlichkeit sein, da es in Amalgam zu ca. 35 % enthalten ist. Allerdings muss auch an Silberhaltige Goldlegierungen und Wurzelfüllmaterialien und an Modeschmuck gedacht werden.

Ergebnisse LTT-Metalle im Zeitraum 1.1.2007 – 31.1.2013 im Institut für Medizinische Diagnostik Berlin



Titan induziert im Unterschied zu anderen Metallen keine Allergien, weil es oxidiert und nicht ionisch im Gewebe vorliegt.



Voraussetzung für eine Allergie ist, dass die Metallionen an körpereigene Proteine binden können und diese modifizieren. Das können Titanpartikel nicht.

**Titan ist somit aus allergologischer Sicht
relativ unbedenklich.**

~~Keine Allergie = keine Unverträglichkeit~~

**Überempfindlichkeiten können ihre Ursache auch in
unspezifischen Immunpathomechanismen haben.**

Unverträglichkeit von Zahnersatzmaterialien

Toxische Belastungen



Dosisabhängigkeit
geringe individuelle
Komponente



Belastung
durch Materialien
**Multielementanalyse
im Speichel**

Endogene Belastung
**DMPS-Test
Urinanalysen**

Individuelle immunologische Überempfindlichkeiten



allergisch bedingt

Typ IV-Allergie auf
Metalle, Kunststoffe u.a.
**LTT
oder
Effektorzelltypisierung**

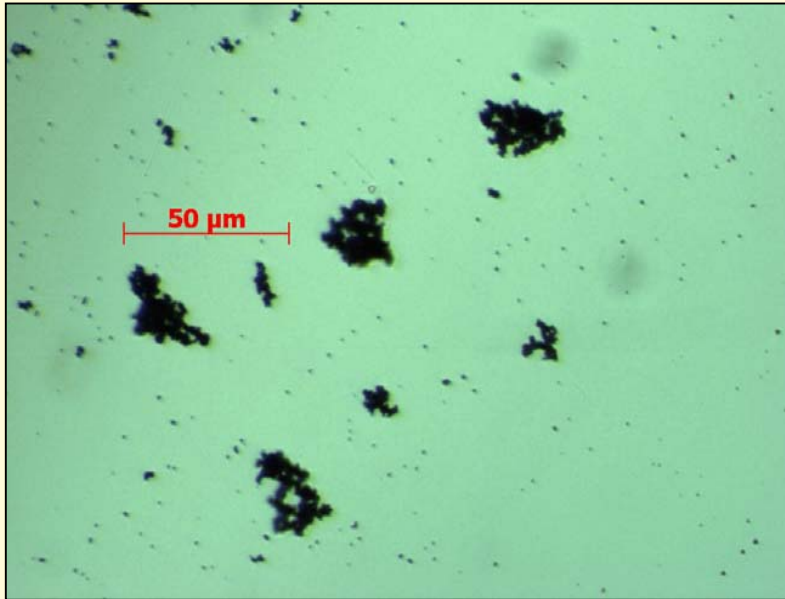
Typ I-Allergie auf
Acrylate u.a.
BDT

nicht allergisch bedingt

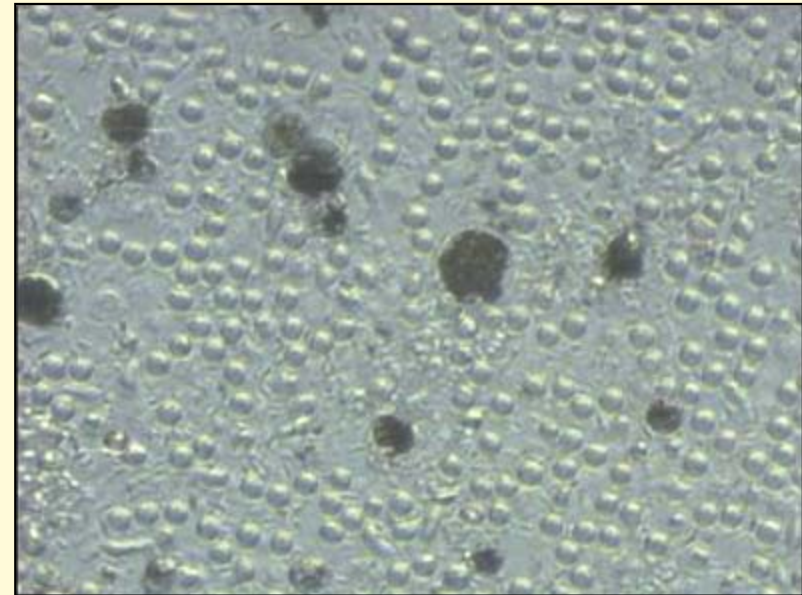
Erhöhte Entzündungs-
Neigung → **Titan-
Überempfindlichkeit**
Titanstimulationstest
**Genetische Entzündungs-
neigung**

Enzymdefekte
Störung der Schleimhaut-
immunität
Immundefekte u.a.

Titanionen oxidieren unmittelbar nach Freisetzung aus dem metallischen Gefüge.



Titanoxidpartikel bei 40-facher Vergrößerung in zellfreiem Medium 10 Minuten nach Zugabe von Titansulfat



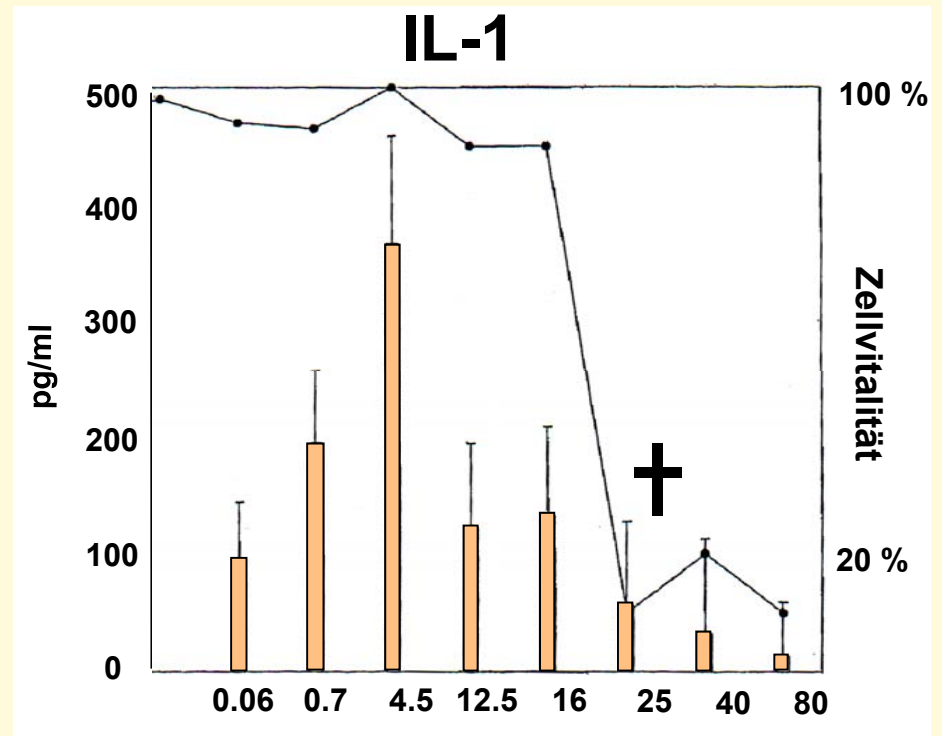
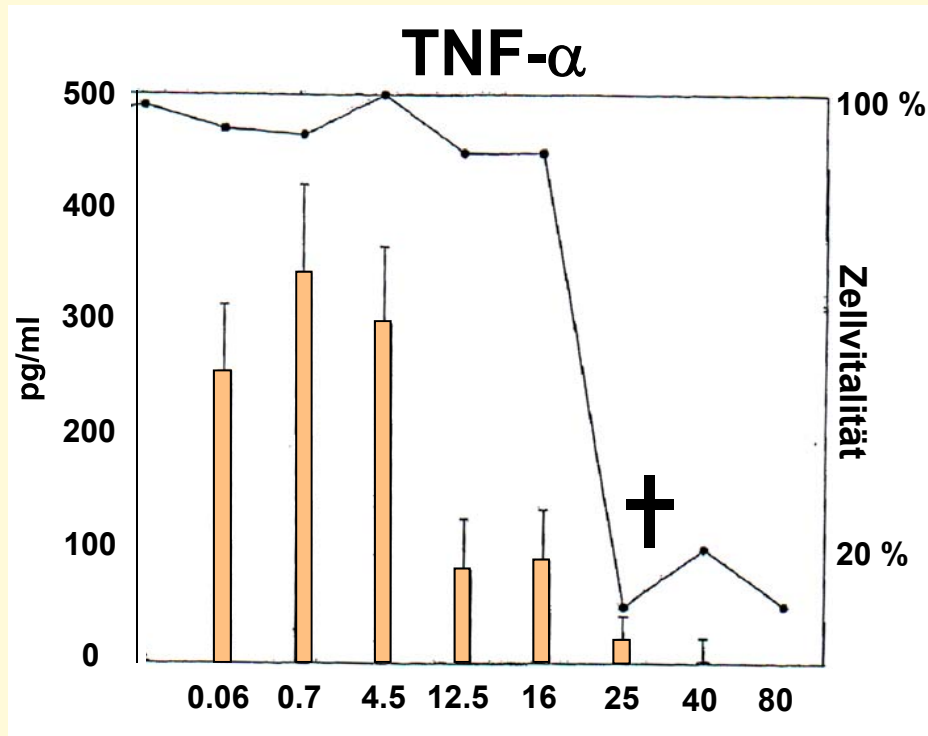
Titanoxidpartikel sind 60 Minuten nach Kulturbeginn zu 100 % von den Makrophagen phagozytiert

Gewebemakrophagen „räumen“ die Titanpartikel im Gewebe ab.

Die dadurch aktivierten Makrophagen sezernieren u.a. $\text{TNF-}\alpha$ und IL-1.

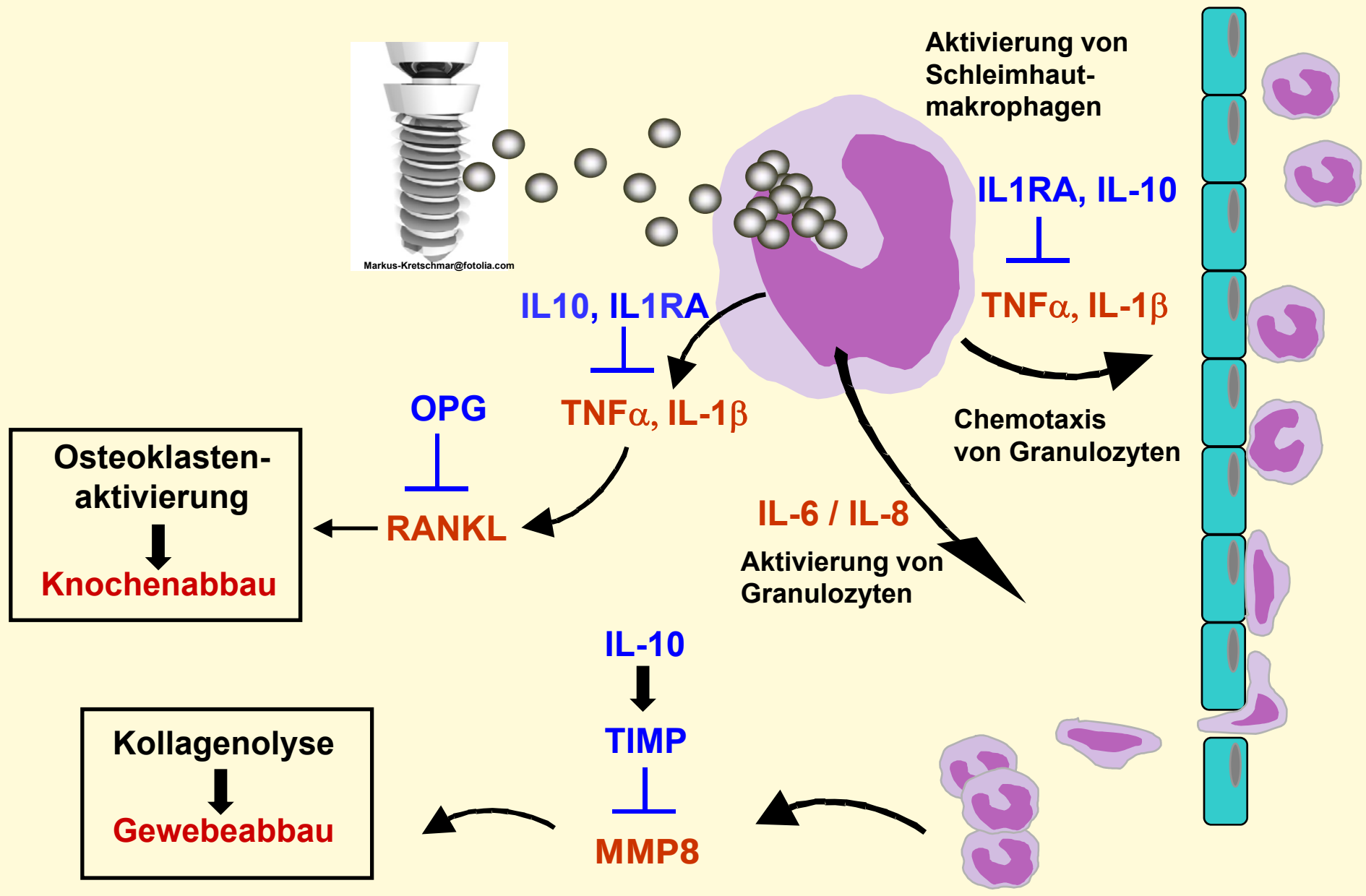
Cytokine Response of Human Macrophage-like Cells After Contact With Polyethylene and Pure Titanium Particles

Christof P. Rader, MD,* Thomas Sterner, MD,* Franz Jakob, MD,†
Norbert Schütze,† and Jochen Eulert, MD*



Menge an Titanpartikel ($\times 10^6$)

Periimplantitis und Perimukositis sind bedingt durch eine unspezifischen Entzündungsreaktion

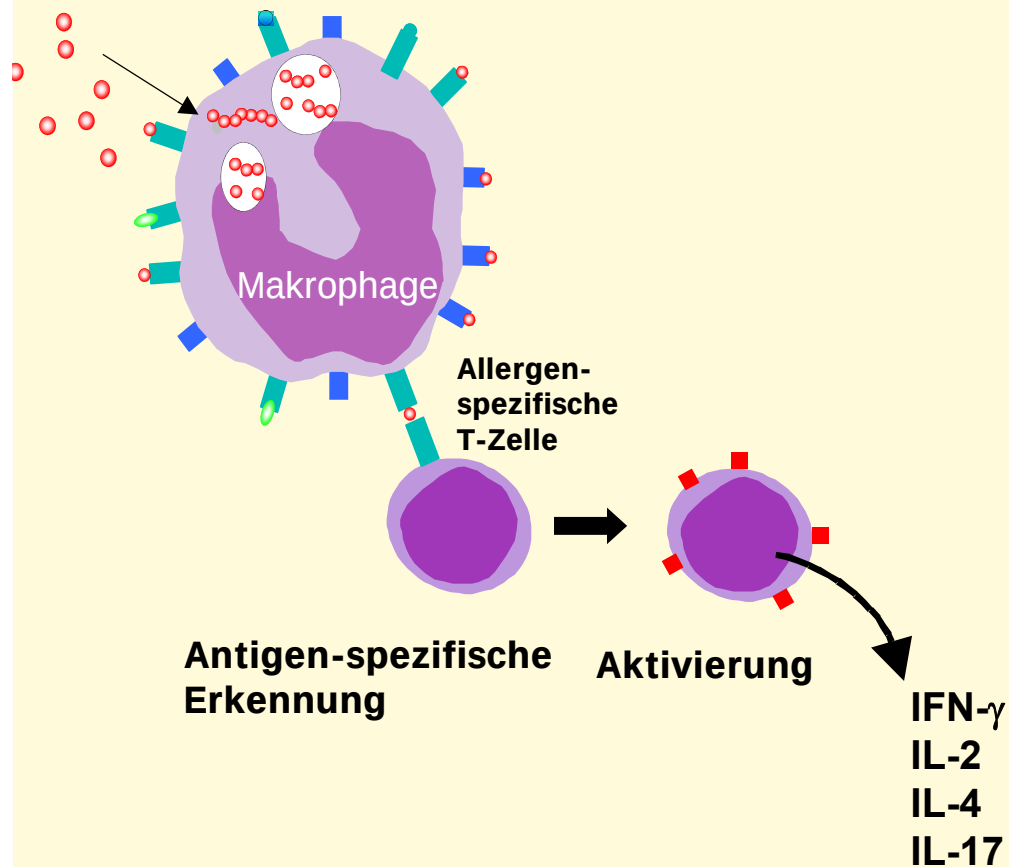


Lymphozytäre Entzündung

- Antigen-spezifische Lymphozyten
- selektive Aktivierung

Antigene:

Haptene (z.B. Metalle),
virale und bakterielle Antigene ...

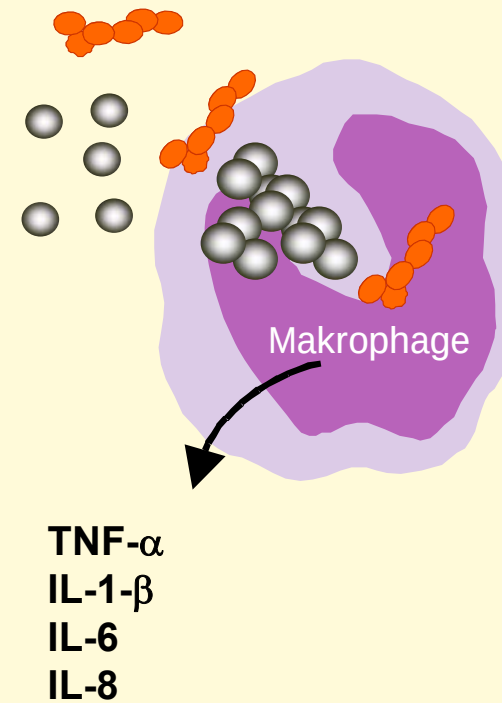


Myelomonozytäre Entzündung

- Phagozyten (v.a. Makrophagen)
- unspezifische Aktivierung

Antigene:

Immunogene Antigene (MG > 6kD)
Partikel (z.B. Titanoxidpartikel)



Lymphozytäre Entzündung

LTT

Untersuchung / Material : **Lymphozytentransformationstest**

	SI
Titan	1,1
Nickel	1,2
Vanadium	1,0
Aluminium	1,1
Positivkontrolle (Antigen)	6,1
Mitogenkontrolle (PWM)	40,5
Leerwert (Negativkontrolle)	1656 (Normalwert < 4000 cpm)

Befund:

Im LTT kein Hinweis auf eine zelluläre Sensibilisierung im Sinne einer Typ IV- Immunreaktion gegenüber Titan

Myelomonozytäre Entzündung

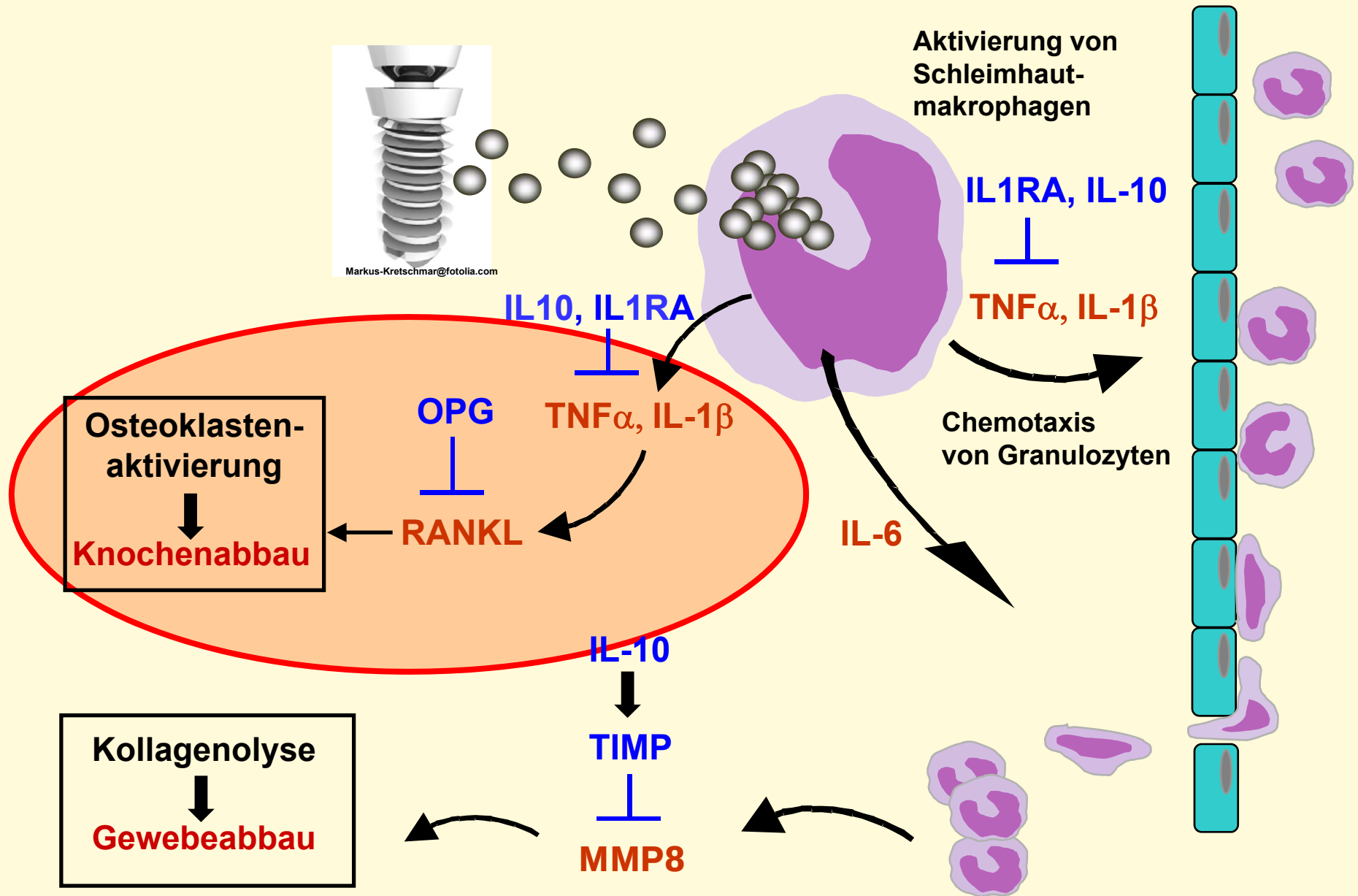
Titanstimulationstest

Titan-Stimulationstest

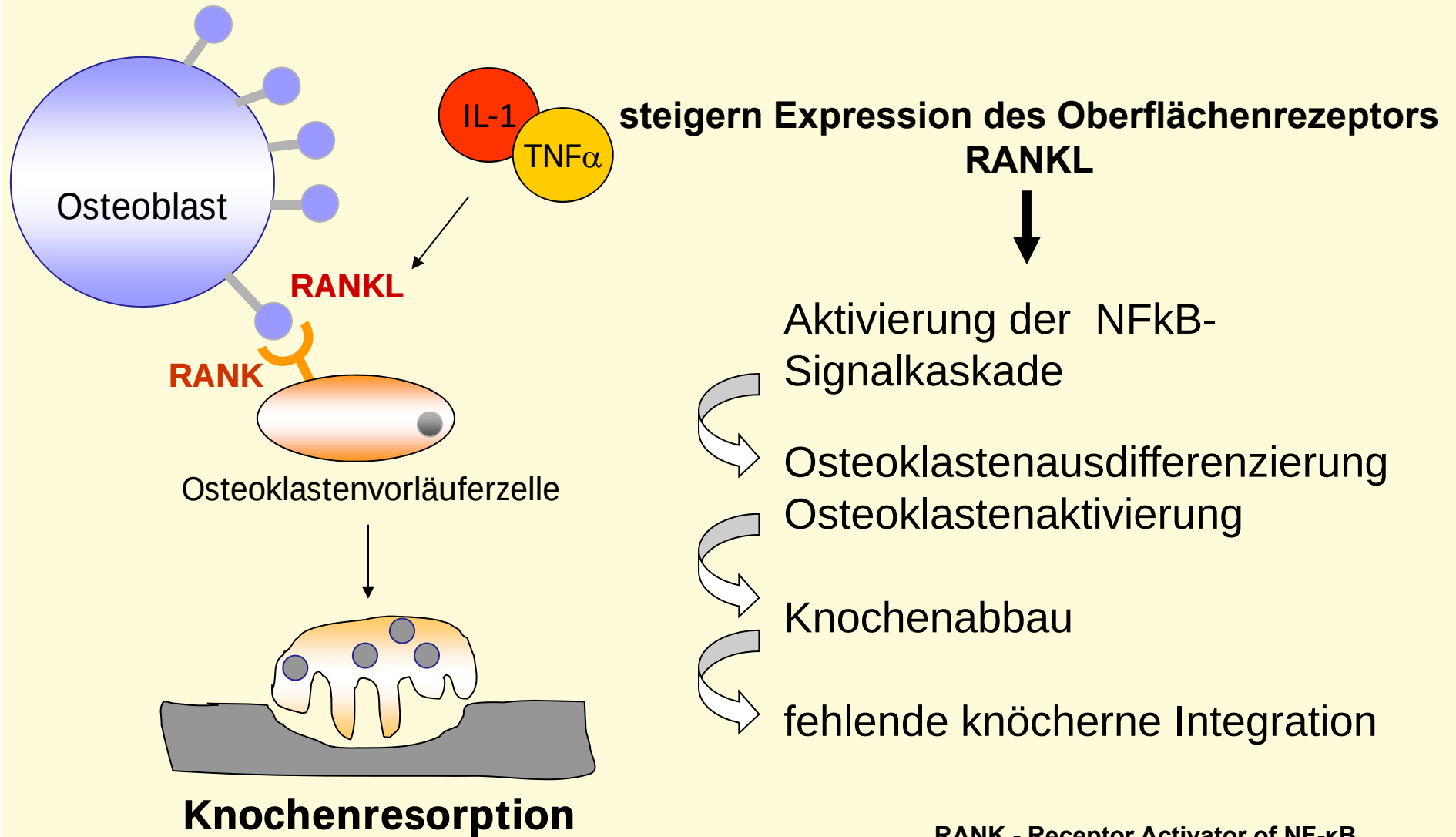
TNF-a stimuliert	386	pg/ml	< 40.0
IL1-b stimuliert	156	pg/ml	< 30.0

Erhöhte Freisetzung von IL-1 und TNF-a nach Stimulation von Makrophagen/Monozyten mit Titanoxidpartikeln. Somit liegt eine immunologische Hyperreaktivität auf Titanoxidpartikel vor.

Periimplantitis und Perimukositis gehen mit einem Knochen- und Gewebeabbau einher.



Die proinflammatorischen Zytokine IL-1 und TNF- α fördern die Osteoklastenaktivierung und den Knochenabbau



RANK - Receptor Activator of NF- κ B

RANKL - Receptor Activator of NF- κ B ligand

Osteolytisches Potential von TNF- α und IL-1

TNF- α und IL-1 aktivieren Osteoklasten

Fox et al., J Cell Physiol. 2000; 184:334-40.

TNF- α gilt als Zytokin mit größter osteolytischer Potenz

Algan et al., Am.J.Orthop.Res.1996; 14:30-35.

Proentzündliche Zytokine können im Implantat-umgebenden Gewebe erhöht nachgewiesen werden

Saffar & Revell, Br J Rheumatol. 1994; 33:309-16.

TNF- α und IL-1 induzieren die Expression von RANKL (Receptor Activator of NF- κ B Ligand) in Stromazellen

Wei et al., J Bone Miner Res. 2006; 38:678-85.

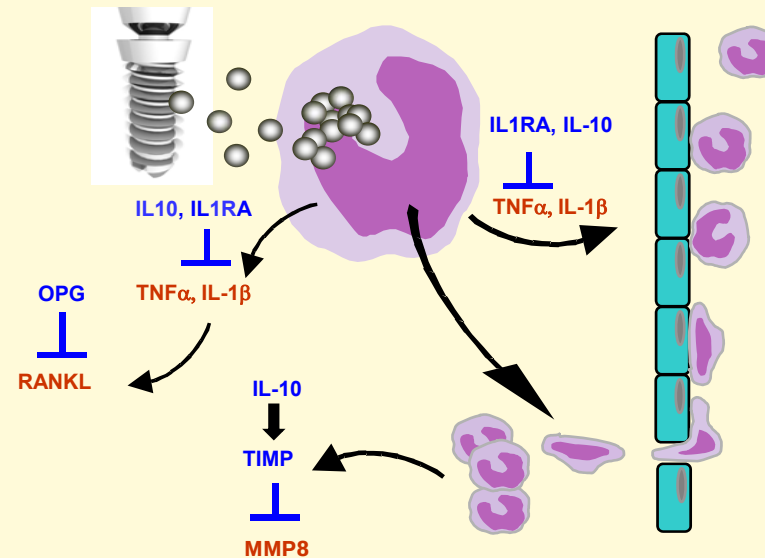
In TNF- α knockout Mäusen ist die Osteolyse blockiert

Merkel et al, Am.J.Path. 1999; 154:203-210.

Neutralisation von TNF- α durch TNF-Antikörper vermindert die Knochenresorption

Ingham et al., 45th Annual Meeting, Orth.Res.Soc.,1999

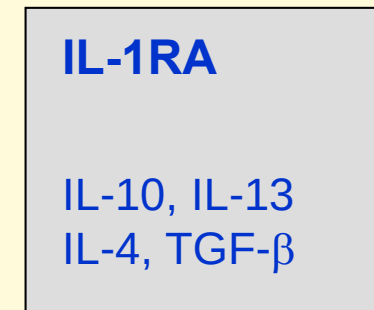
Die normale Entzündungsantwort ist regulierter Balanceakt



pro-entzündlich

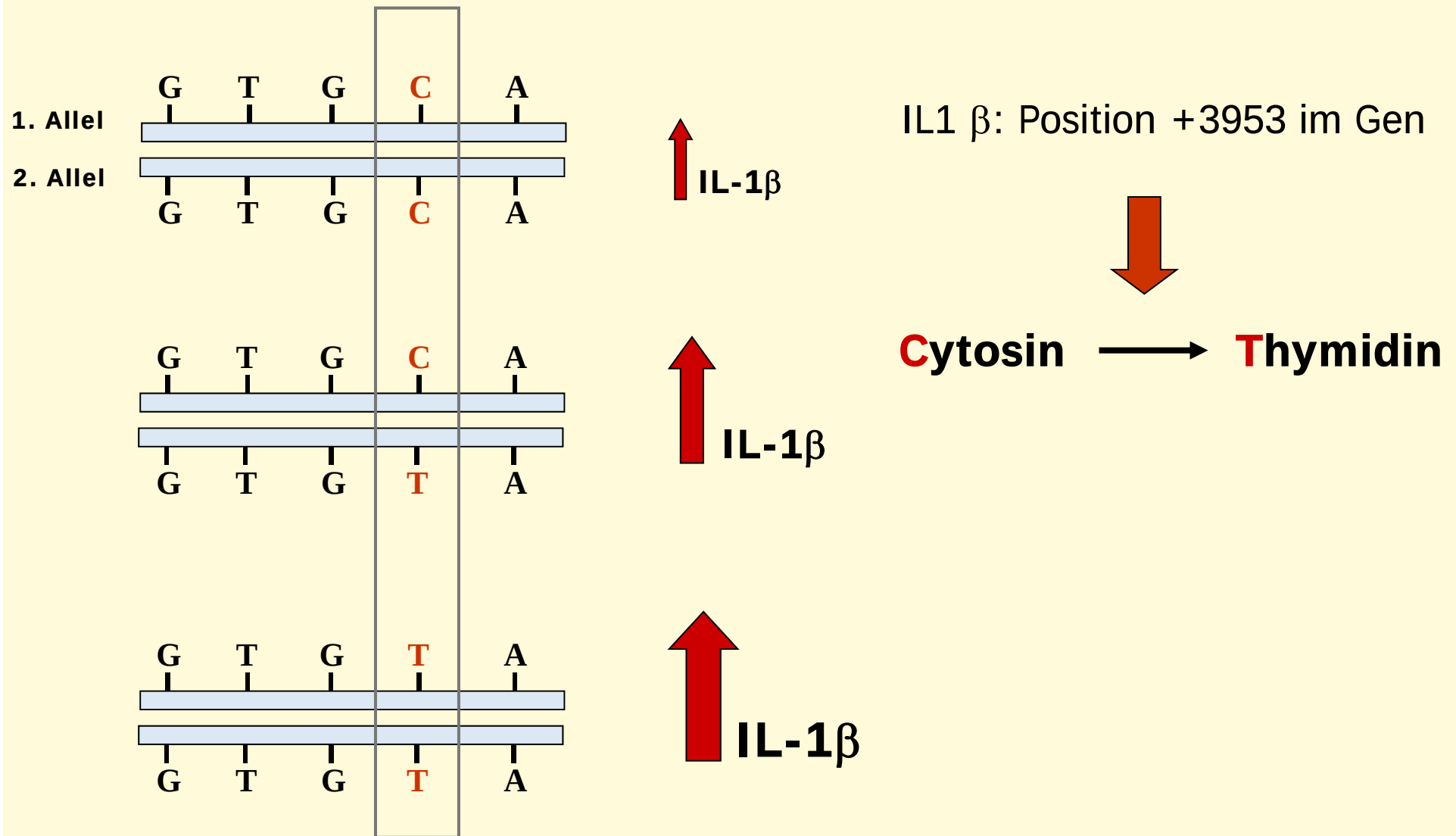


anti-entzündlich



Die Sekretionskapazität für pro- und antientzündlichen Zytokine ist genetisch determiniert.

Bsp.: Interleukin-1 β



Die Sekretionskapazität für pro- und antientzündlichen Schlüsselzytokine ist durch Polymorphismen genetisch determiniert.

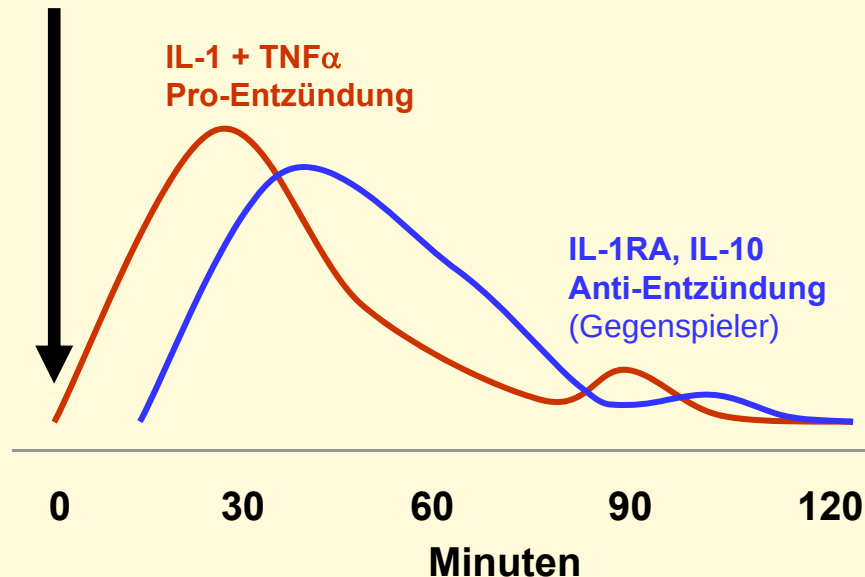
Funktionell relevante Polymorphismen:

Gen	Polymorphismus	Effekt
IL-1A	-889 C/T	gesteigerte Freisetzung ↑
IL-1B	+3953 C/T	gesteigerte Freisetzung ↑
TNFA	-308 G/A	gesteigerte Freisetzung ↑
IL-1RA	+2018 T/C	verminderte Freisetzung ↓

Ein Überwiegen pro-entzündlich assoziierter Genpolymorphismen stellt einen unabhängigen Risikofaktor für chronische Entzündungsverläufe dar.

Bei der angepassten Entzündungsantwort wird eine starke Entzündungsantwort von einer deutlichen anti-entzündlichen Reaktion gebremst.

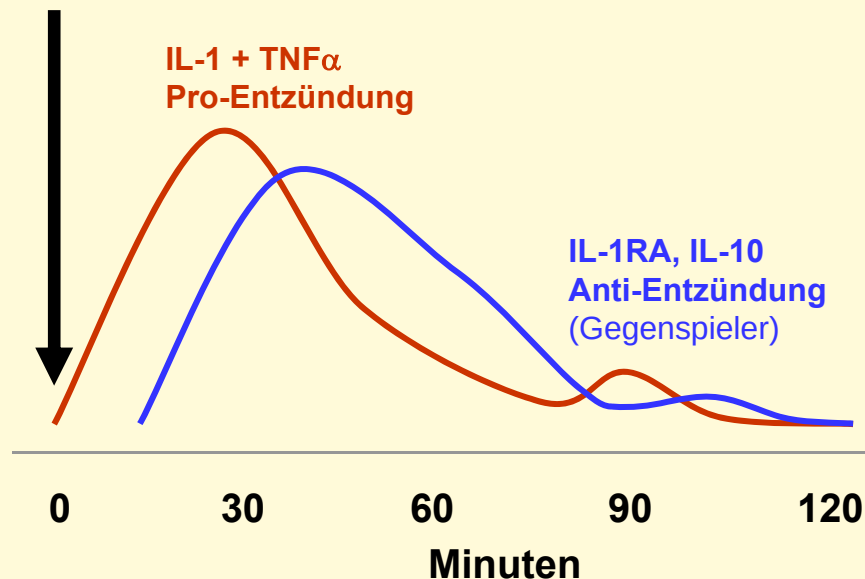
Entzündungsreiz



Ein Überwiegen pro-entzündlich assoziierter Genpolymorphismen stellt einen unabhängigen Risikofaktor für chronische Entzündungsverläufe dar.

Bei der angepassten Entzündungsantwort wird eine starke Entzündungsantwort von einer deutlichen anti-entzündlichen Reaktion gebremst.

Entzündungsreiz

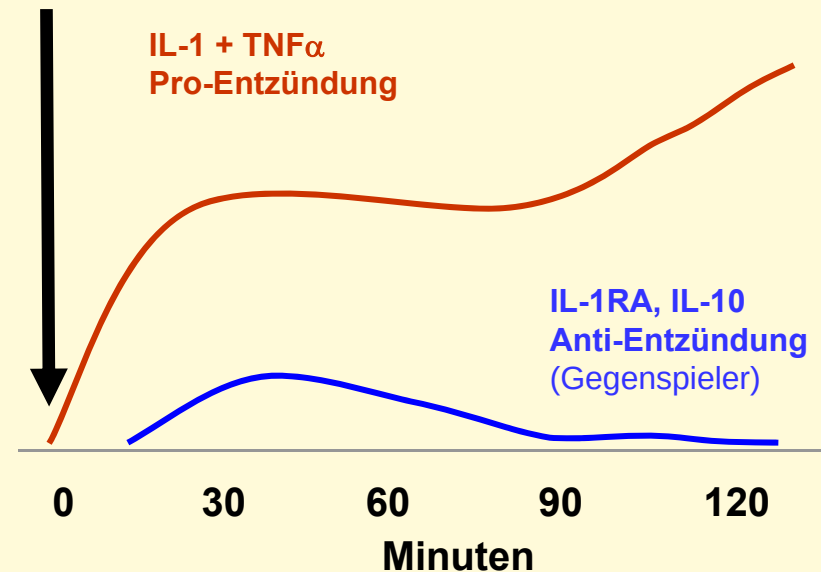


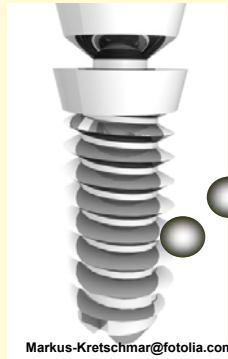
Anti-Entzündung zu gering!

Pro-Entzündung zu stark!

Folge: überschießende Entzündungsantwort, chronische Entzündungen

Entzündungsreiz



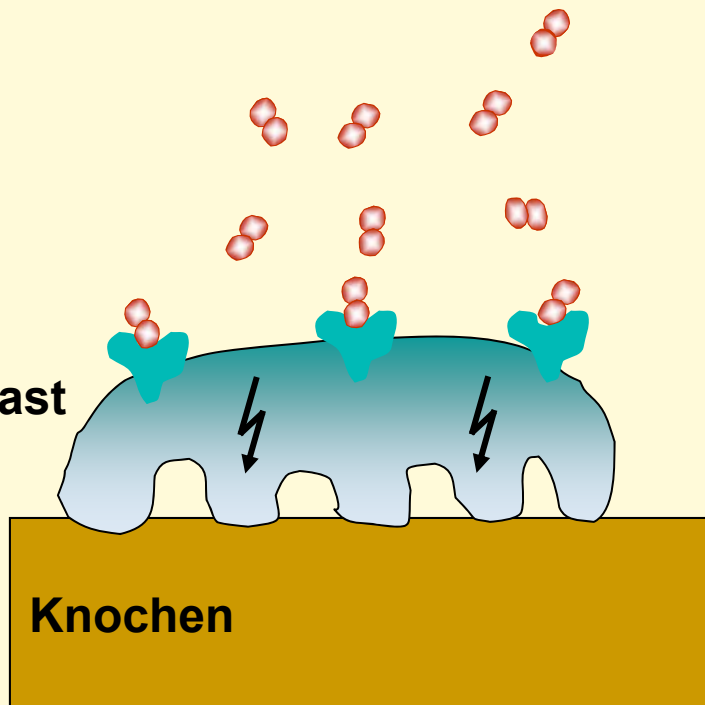


Aktivierung von
Schleimhaut-
makrophagen

TNF α -Freisetzung

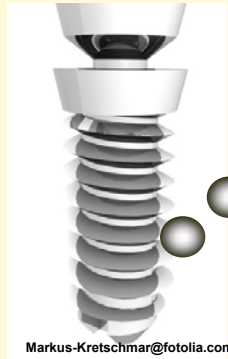
IL-1-Freisetzung

Osteoklast



Knochen

Aktivierende Rezeptor-vermittelte
Effekte des IL-1 am Osteoklasten



Aktivierung von
Schleimhaut-
makrophagen

TNF α -Freisetzung

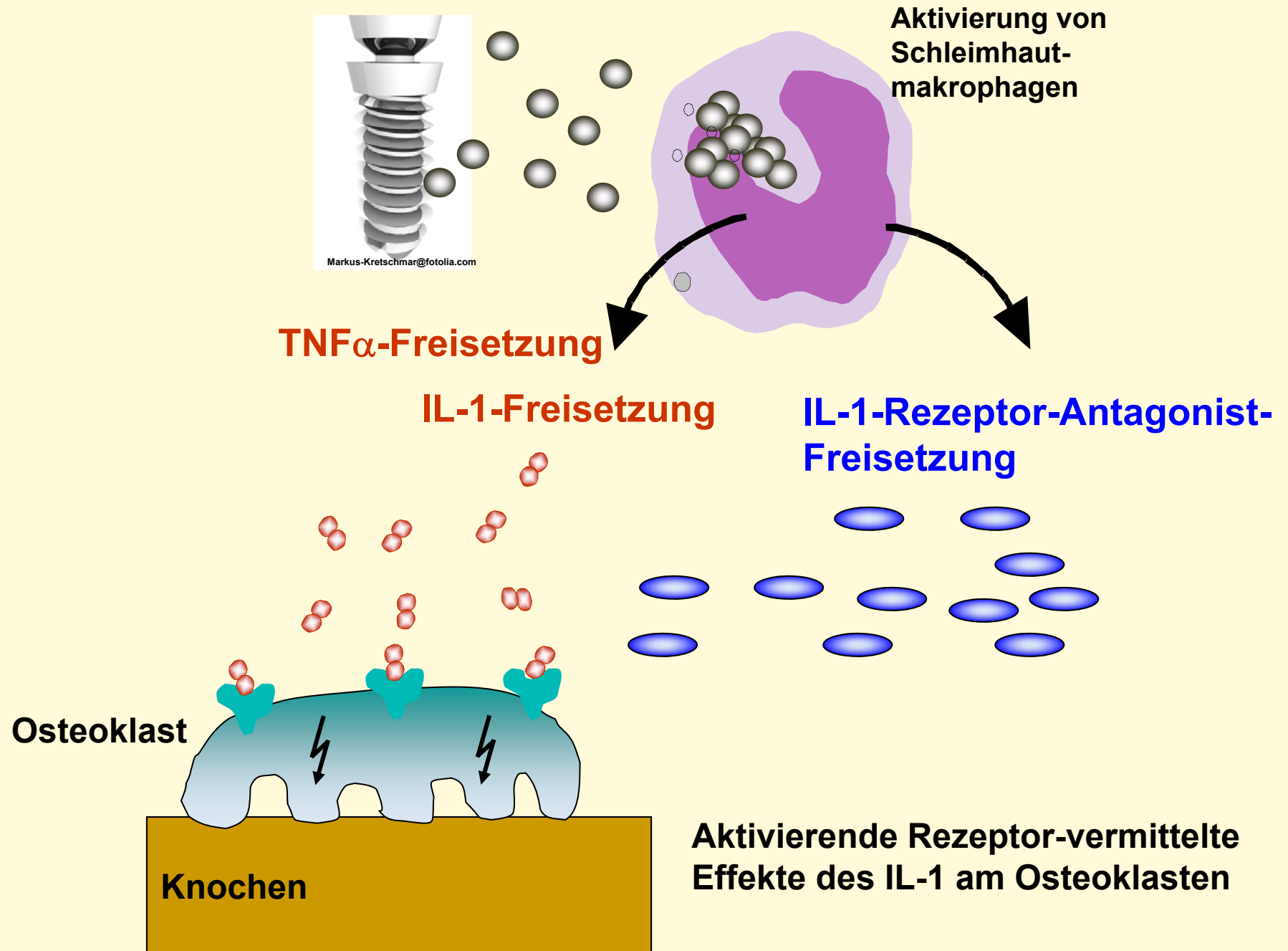
IL-1-Freisetzung

**IL-1-Rezeptor-Antagonist-
Freisetzung**

Osteoklast

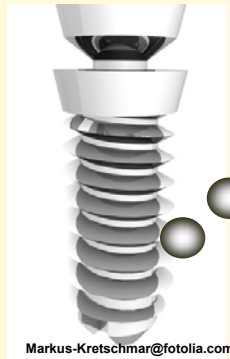
Knochen

Aktivierende Rezeptor-vermittelte
Effekte des IL-1 am Osteoklasten



Keine erhöhte
Entzündungsneigung

GRAD 0



Markus-Kretschmar@fotolia.com

Aktivierung von
Schleimhaut-
makrophagen

$\text{TNF}\alpha$ -Freisetzung

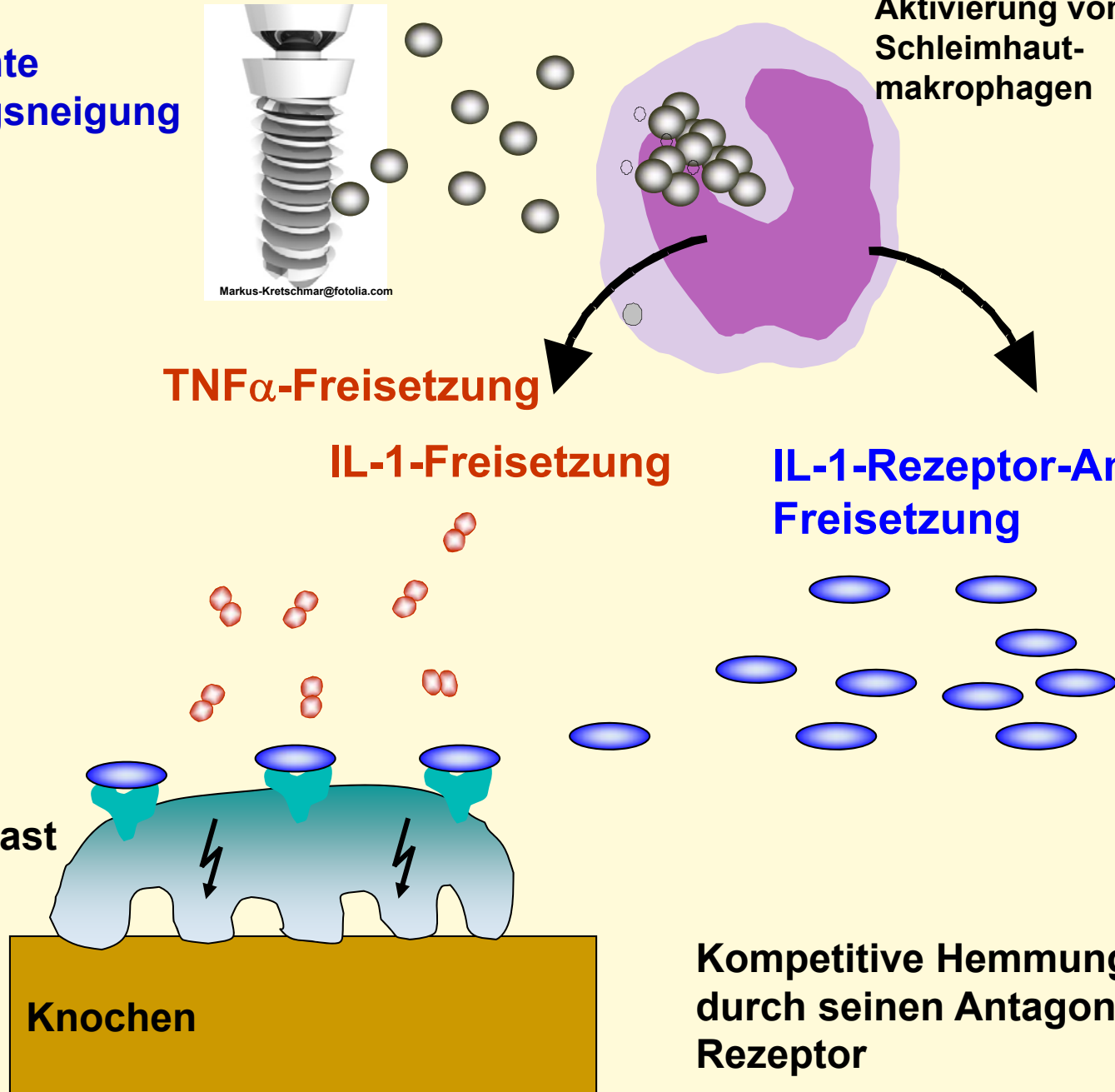
IL-1-Freisetzung

IL-1-Rezeptor-Antagonist-
Freisetzung

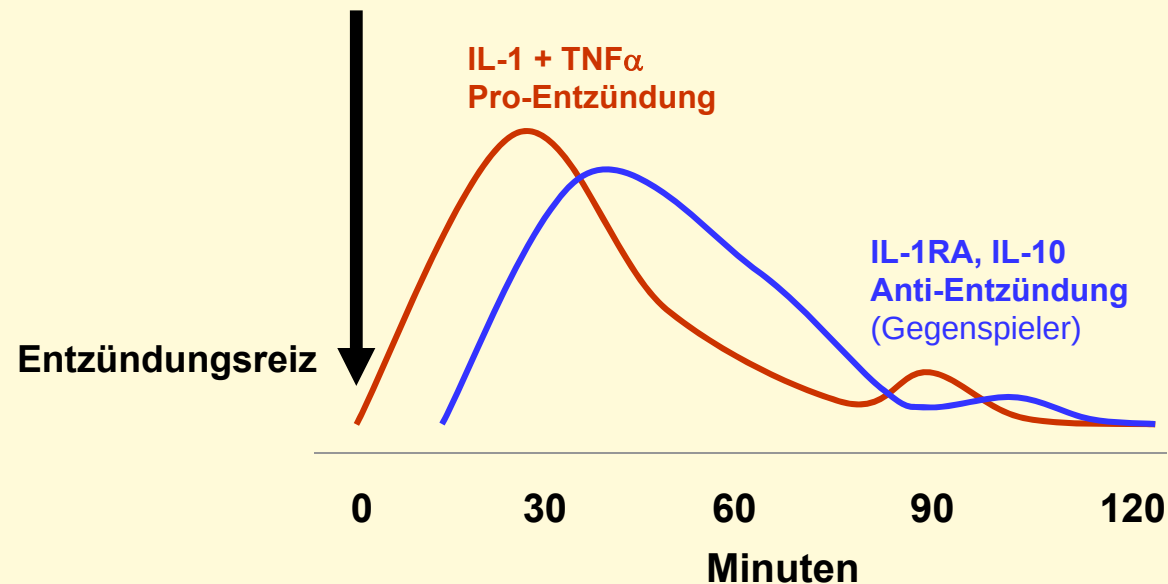
Osteoklast

Knochen

Kompetitive Hemmung von IL-1
durch seinen Antagonisten am
Rezeptor



Die angepasste Entzündungsantwort ist der Idealzustand.



Zytokinpolymorphismen Profil

GRAD 0

IL1A	-889:	Genotyp CT
IL1B	+3953:	Genotyp CC
IL1RA	+2018:	Genotyp TT
TNF α	-308:	Genotyp GG

Die nachgewiesene Genotypkonstellation geht einher mit einer normalen Produktion der entzündungsfördernden Zytokine IL1 und TNF α sowie des entzündungshemmenden IL1-Rezeptorantagonisten.

Dies prädisponiert bei vorhandenem Entzündungsreiz für eine adäquate normale Entzündungsaktivität (GRAD 0).

**Erhöhte
Entzündungsneigung**

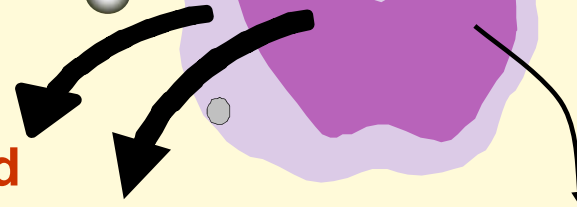
GRAD 4



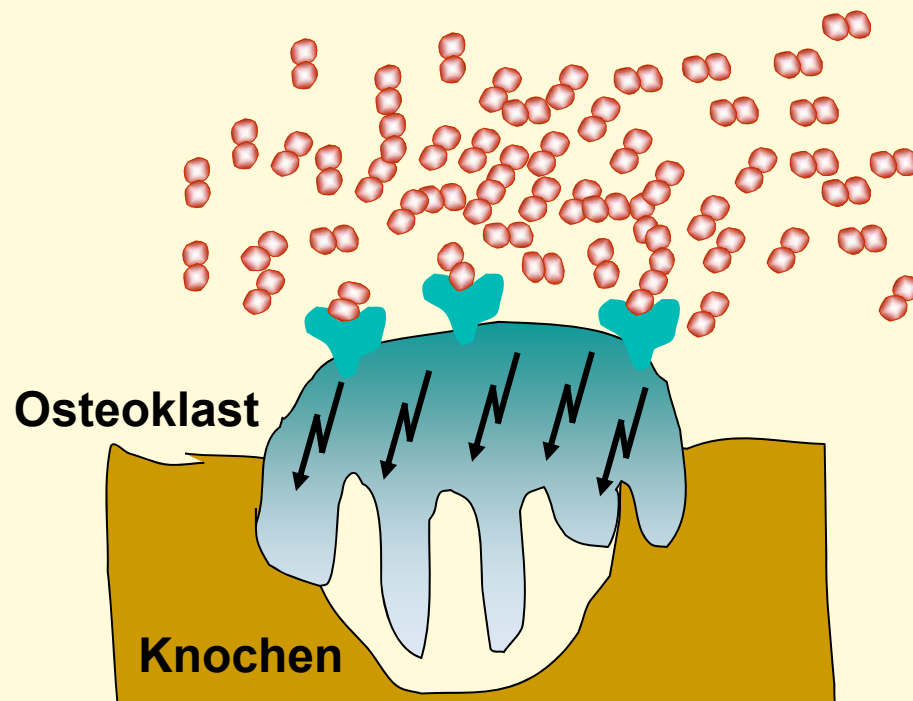
TNF α - und

IL-1-Freisetzung vermehrt

**Aktivierung von
Schleimhaut-
makrophagen**



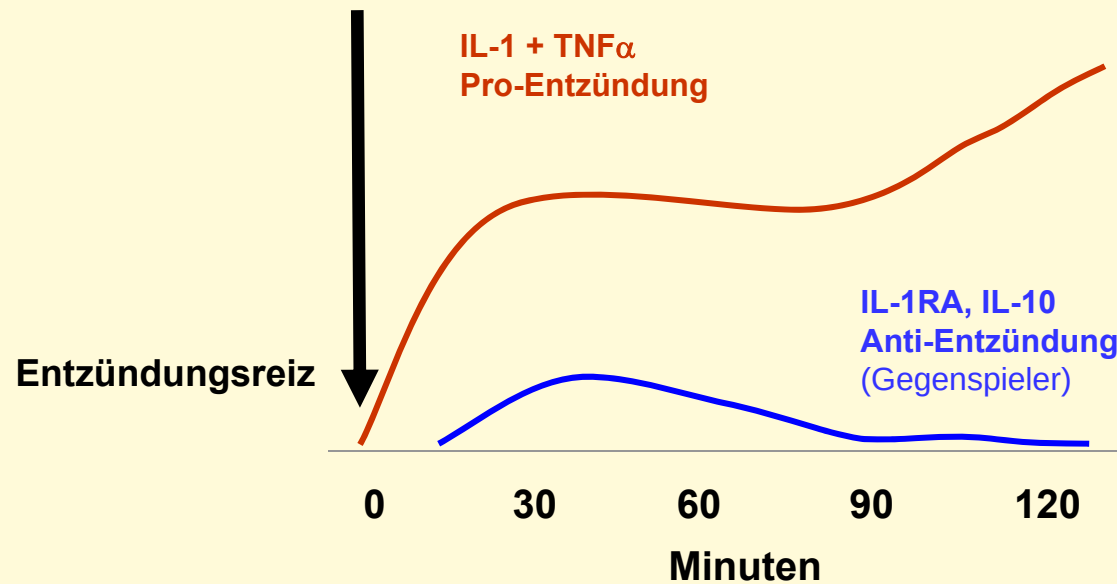
**IL-1-Rezeptor-Antagonist-
Freisetzung vermindert**



**Verstärkte Wirkung des IL-1
am Rezeptor**

**deutlich verstärkte
Knochenresorption**

Das Überwiegen proentzündlich assoziierter Polymorphismen ist ein Risikofaktor für chronische Entzündungsverläufe.



Zytokinpolymorphismen Profil

GRAD 4

IL1A	-889:	Genotyp TT
IL1B	+3953:	Genotyp TT
IL1RA	+2018:	Genotyp TC
TNF α	-308:	Genotyp GA

Die nachgewiesene Genotypkonstellation geht einher mit einer erhöhten Produktion der entzündungsfördernden Zytokine TNF α und IL1 bei gleichzeitiger Erniedrigung des entzündungshemmenden IL1-Rezeptorantagonisten.

Die Anzahl an Risiko-Polymorphismen ergibt den Entzündungsgrad

	Grad 0	GRAD 1	GRAD 2	GRAD 3	GRAD 4
IL1 α/β IL1RN TNF- α	kein Polymorphismus	normal erniedrigt normal	erhöht normal normal	erhöht erniedrigt normal	erhöht erniedrigt erhöht
IL1 α/β IL1RN TNF- α		normal normal erhöht		erhöht normal erhöht	
IL1 α/β IL1RN TNF- α				normal erniedrigt erhöht	

Für Polymorphismen in den IL1A-, IL1B-, IL1RN- und TNFA-Genen ist der Zusammenhang zur Periimplantitis, zum frühzeitigen Verlust marginalen Knochens um enossale Dentalimplantate und zum Implantatverlust gezeigt.

Dirschnabel et al. (2011), Clin. Oral implant Research.

References	Polymorphisms	Case (n)/ control (n)	Population	Results
Wilson & Nunn (1999)	<i>IL1A</i> (– 889) and <i>IL1B</i> (+ 3954)	27/38	American	Not associated with implant failure
Rogers et al. (2002)	<i>IL1A</i> (– 889) and <i>IL1B</i> (+ 3954)	19/31	Australian Caucasian	Not associated with implant failure
Feloutzis et al. (2003)	<i>IL1A</i> (– 889) and <i>IL1B</i> (+ 3954)	51/39	European Caucasian	Smoking + <i>IL1</i> -positive genotype associated with marginal bone loss
Shimpuku et al. (2003)	<i>IL1A</i> (– 889) and <i>IL1B</i> (– 511, + 3954)	17/22	Japanese	Associated with marginal bone loss
Gruica et al. (2004)	<i>IL1A</i> (– 889) and <i>IL1B</i> (+ 3954)	34/146	European Caucasian	Smoking + <i>IL1</i> -positive genotype associated with marginal bone loss
Campos et al. (2005)	<i>IL1A</i> (– 889), <i>IL1B</i> (– 511, + 3954), and <i>IL1RN</i>	28/34	Brazilian	Not associated with implant early failure
Jansson et al. (2005)	<i>IL1A</i> (– 889) and <i>IL1B</i> (+ 3954)	6/16	European Caucasian	Smoking + <i>IL1</i> -positive genotype associated with marginal bone loss
Laine et al. (2006)	<i>IL1A</i> (– 889), <i>IL1B</i> (– 511, + 3954), and <i>IL1RN</i>	71/49	North Swedish Caucasian	<i>IL1RN</i> associated with peri-implantitis
Lin et al. (2007)	<i>IL1A</i> (– 889), <i>IL1B</i> (– 511), and <i>IL1B</i> (+ 3954)	29/30	Chinese	Associated with early marginal bone loss: <i>IL1B</i> (– gene polymorphism
Montes et al. (2009)	<i>IL1</i> (+ 3954) and <i>IL1RN</i>	90/176	Brazilian	<i>IL1RN</i> associated with multiple implant loss

[Int J Oral Maxillofac Implants](#), 2009 Nov-Dec;24(6):1101-5.

Evaluation of the effect of tumor necrosis factor-alpha gene polymorphism on the risk of peri-implantitis: a case-control study.

[Curv PR](#), [Horewicz VV](#), [Ferrari DS](#), [Brito R Jr](#), [Sendyk WR](#), [Duarte PM](#), [Shibli JA](#).

[Implant Dent](#), 2004 Mar;13(1):95-101.

Early failure of dental implants and TNF-alpha (G-308A) gene polymorphism.

[Campos MJ](#), [dos Santos MC](#), [Trevilatto PC](#), [Scarel-Caminaga RM](#), [Bezerra FJ](#), [Line SR](#).

Patienten mit genetisch bedingter erhöhter Entzündungsneigung (GRAD 2-4) und/oder positivem Titanstimulationstest sind Risikopatienten bei dentalen Titanimplantationen.

Genetische Entzündungsneigung:

Zytokinpolymorphismen Profil

GRAD 4

IL1A -889: Genotyp TT
IL1B +3953: Genotyp TT
IL1RA +2018: Genotyp TC
TNFa -308: Genotyp GA

Die nachgewiesene Genotypkonstellation geht einher mit einer erhöhten Produktion der entzündungsfördernden Zytokine TNFa und IL1 bei gleichzeitiger Erniedrigung des entzündungshemmenden IL1-Rezeptorantagonisten.

Titanstimulationstest:

Titan-Stimulationstest

TNF-a stimuliert	386	pg/ml	< 40.0
IL1-b stimuliert	156	pg/ml	< 30.0

Erhöhte Freisetzung von IL-1 und TNF-a nach Stimulation von Makrophagen/Monozyten mit Titanoxidpartikeln. Somit liegt eine immunologische Hyperreaktivität auf Titanoxidpartikel vor.

Zusammenfassung Pathogenese der Titanunverträglichkeit Teil 1:

- Mit wachsender Zahl inserierter Titanimplantate steigt auch die Anzahl der Patienten, die eine Periimplantitis entwickeln.
- Titan induziert keine Allergie.
- Die häufigste Ursache für Titanimplantatverluste sind Entzündungsreaktionen auf Titanimplantat-Abriebpartikel, die zur fehlenden knöchernen Integration (Osteolyse) führen.
- Das Ausmaß der Entzündung ist u.a. abhängig von der genetisch determinierten Entzündungsneigung des Patienten (Zytokinpolymorphismen in den Genen IL-1, IL-1RN und TNF- α).
- Die Hyperreaktivität eines Patienten auf Titanoxidpartikel ist im Titanstimulationstest messbar.

Ausblick Pathogenese der Titanunverträglichkeit Teil 2:

- Was bedeutet bei präventiver Testung ein positiver Titanstimulationstest oder ein erhöhter genetischer Entzündungsgrad ? Stellen positive Ergebnisse eine absolute Kontraindikation dar ?
- Sollte bei kurativer Testung bei positivem Titanstimulationstest oder einem erhöhten genetischen Entzündungsgrad das Implantat entfernt werden ?
- Welche prophylaktischen bzw. kurativen Maßnahmen können bei positiven Laborergebnissen durchgeführt werden ? Gibt es eine Alternative zum Titan ?
- Reicht einer der beiden Labortests aus (Titanstimulationstest oder Entzündungsgrad) für eine Risikoevaluierung vor Titan-Implantation ?
- Wann ist die Durchführung des LTT auf Titan indiziert ?
- Gibt es weitere Risikofaktoren für einen Titanimplantatverlust ?
- Vorstellung der Studie : Genetic and immunological markers predict titanium implant failure – a retrospective study. Int J oral and maxillofac surg 2013)