

· 论著 · 典型病例分析 ·

种植体植入术后双膦酸盐相关性颌骨坏死 病例报告及文献回顾

王璐^{1, 2} 林海燕³ 刘倩^{1, 2, 4} 王倩^{1, 2} 宿玉成^{2, 4}¹ 北京瑞城口腔医院 100032; ² 北京口腔种植培训中心 100032; ³ 杭州医学院存济口腔医学院 310053; ⁴ 中国医学科学院北京协和医院口腔种植中心 100032

通讯作者: 宿玉成, Email: yuchengsu@163.com, 电话: 010-66212299

【摘要】 本文报道一例双膦酸盐相关性颌骨坏死病例的临床表现及治疗过程。患者因前列腺癌应用双膦酸盐治疗, 用药期间行下颌左侧后牙区的种植体植入手术, 发生术区颌骨坏死。予以手术治疗, 术中辅助使用内镜。术后愈合良好。同时本文对双膦酸盐相关性颌骨坏死的发病机制、相关因素、治疗及预防等方面的文献进行了综述和讨论。

基金项目: 国家重点研发计划资助 (2016YFC1102602)

Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw after implant placement: a case report and literature review

Wang Lu^{1, 2}, Lin Haiyan³, Liu Qian^{1, 2, 4}, Wang Qian^{1, 2}, Su Yucheng^{2, 4}¹Beijing Citident Hospital of Stomatology, Beijing 100032, China; ²Beijing Implant Training College(BITC), Beijing 100032, China; ³Savaid Stomatology School, Hangzhou Medical College, Hangzhou 310053, China; ⁴Dental Implant Center, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy Of Medical Sciences, Beijing 100032, China

Corresponding author: Su Yucheng, Email: yuchengsu@163.com, Tel: 0086-10-66212299

【Abstract】 This article reports a case of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. The patient was treated with bisphosphonates due to prostate cancer. Implant placement was performed in the left posterior mandible during the intake of bisphosphonate, which resulted in osteonecrosis in the operation area. Surgical treatment was performed, and the affected area was observed by endoscope during the operation. The patient healed well after operation. Furthermore, this article reviews the literature on the pathogenesis, related factors, treatment and prevention of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw.

Fund Program: National Key R&D Program of China (2016YFC1102602)

2003 年, Marx RE 报道了第一例双膦酸盐相关性颌骨坏死 (bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw, BRONJ) 的病例^[1]。此后, 此类病例逐渐引起了口腔科及其他相关学科医生的关注。根据文献统计, 罹患 BRONJ 的患者中, 约 95% 为接受大剂量双膦酸盐药物静脉给药的癌症患者, 约 5% 为低剂量使用双膦酸盐药物的骨质疏松患者^[2]。

病例资料

1. 一般资料: 患者男性, 69 岁。2016 年 12 月因“下颌左侧后部种植体失败, 遗留创口数月不愈”转入北京瑞城口腔医院种植科。2015 年 8 月于外院行下颌左侧第二磨牙位点的种植体植入手术; 2015 年 11 月起自觉发炎、疼痛;



王璐

硕士、主治医师, 研究方向: 牙周病学和口腔种植学研究



宿玉成

主任医师、教授、博士研究生导师, 研究方向: 口腔种植外科和正颌外科相关研究

DOI: 10.12337/zgkqzxzz.2021.02.008

收稿日期 2020-10-04 本文编辑 石淑芹, 宋宇

引用本文: 王璐, 林海燕, 刘倩, 等. 种植体植入术后双膦酸盐相关性颌骨坏死病例报告及文献回顾 [J]. 中国口腔种植学杂志, 2021, 26(1): 35-39. DOI: 10.12337/zgkqzxzz.2021.02.008.

2016 年 2 月自觉下唇麻木；2016 年 7 月于外院取出种植体，行抗炎治疗，症状未缓解，术区创口不愈；2016 年 9 月，抗炎治疗无效，于外院深刮牙槽骨壁，每日应用氯己定含漱液及替硝唑含漱液含漱，碘纺纱条换药治疗。2016 年 11 月起，患者自觉创口渗出和下颌麻木逐渐加重，局部剧痛且难以忍受；2016 年 12 月就诊于我院，临床诊断为下颌左侧双膦酸盐相关性颌骨坏死（II 期），建议停药半年后行手术治疗去除死骨；2017 年 5 月患者前来复诊。

2. 既往史：患者于 2010 年 12 月确诊前列腺癌，自 2012 年至 2016 年 9 月，因前列腺癌骨转移行唑来膦酸注射液注射（1 次/月，静脉滴注）。高血压史（服药控制，初诊时血压 80/140 mmHg）、高血糖史（服药控制，初诊时空腹血糖 6.7 mmol/L）。

3. 临床检查：

（1）2016 年 12 月口内及放射线检查：全口口腔卫生状态不佳，菌斑指数 PLI=3，牙石指数 CI-S=2。37 位点为火山口样创口，直径约 13 mm，深约 16 mm。创缘软组织红肿，未见脓性分泌物，创口内可见肉芽组织存留及骨面裸露（图 1A）。37 位点舌侧扪诊疼痛。针刺检查示下颌左侧皮肤麻木（图 1B），牙龈自感疼痛。锥形束 CT 示 37 位点骨质破坏影像，密度不均，边缘不规则，矢状位示骨破坏范围自 37 位点近中至 36 远中、根方近下颌神经管，36 牙周膜增宽；冠状位示舌侧骨板破坏穿通（图 2）。

（2）2017 年 5 月口内及影像学检查：口内检查未见

明显变化，创口内有少量分泌物。锥形束 CT 示骨质破坏范围增大，矢状位示 36 根分叉处骨密度不均，矢状位示舌侧皮质骨不连续，水平位示密度不均区域增大、颊舌侧皮质骨均被累及（图 3）。

4. 诊断：下颌左侧双膦酸盐相关性颌骨坏死（II 期）

5. 治疗过程：2017 年 5 月术前 1 日及手术当日行克林霉素磷酸酯静脉滴注（600 mg，2 次/日，静脉滴注）。术中阿替卡因肾上腺素注射液（必兰）局部浸润麻醉，钳拔 36，粘连明显。于 36 近中行垂直切口，36、37 位点牙槽嵴顶行水平切口，37 远中垂直切口，翻瓣，见灰白色死骨暴露（图 4A）。搔刮肉芽组织，逐块摘除死骨，摘至下颌神经管处，患者感疼痛，内镜辅助，小心去除死骨及肉芽组织，至镜下可见骨髓腔渗血（图 4B、C）。冲洗，填塞明胶海绵，拉拢创口，无张力严密缝合（图 4D）。术后行克林霉素输液（2 次/日，静脉滴注）3 日，0.12% 复方氯己定含漱液含漱（3 次/日）10 日。术后标本送检，病理结果为“死骨组织”（图 5）。结合病史、临床表现、放射线检查和病理结果，最终诊断为“下颌左侧双膦酸盐相关性颌骨坏死”。

6. 随访：术后 10 日于当地拆线，创口内衬非角化上皮，无骨面暴露，无渗出，下唇麻木基本消失。术后 6 周来我院复查，见术区仍有凹陷，但表面黏膜覆盖。术后 7 个月复查，愈合良好，黏膜形态基本正常，锥形束 CT 检查未见新的死骨形成（图 6，图 7）。

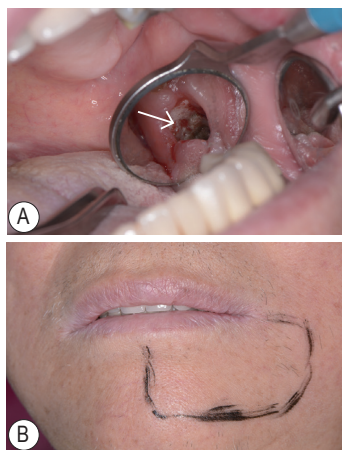


图1 37 位点初诊照片 A：37 位点（镜像）遗留种植体取出后未愈创口；B：左下颌皮肤麻木范围（黑笔所示）

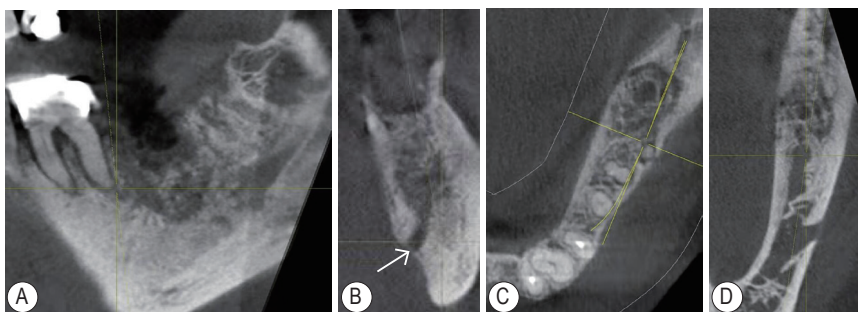


图2 下颌左侧初诊 CBCT（可见骨密度不均，边缘不规则，箭头处示舌侧皮质骨破坏穿通） A：局部冠状位；B：局部矢状位；C、D：分别为局部高、低水平位

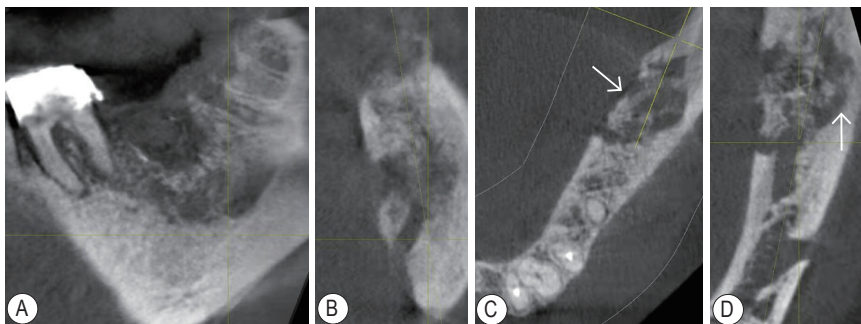


图3 下颌左侧术前 CBCT（箭头处示骨破坏范围增大，近中至 36 根分叉处，颊舌侧皮质骨均受侵犯） A：局部冠状位；B：局部矢状位；C、D：分别为局部高、低水平位

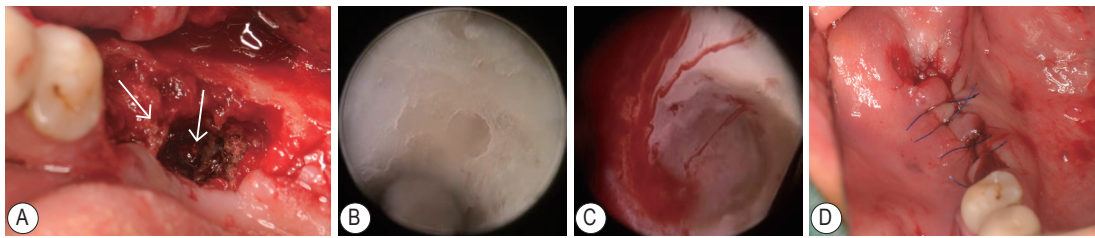


图4 术中手术过程 A: 翻瓣后见36位点大量肉芽组织覆盖, 37位点见死骨暴露; B: 内镜下见灰白色死骨; C: 内镜下见去除死骨之后形成的出血创面; D: 严密关闭创口

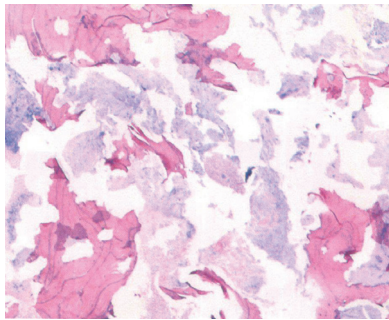


图5 术后病理检查示软组织炎症及死骨组织(放大倍数: 200倍)

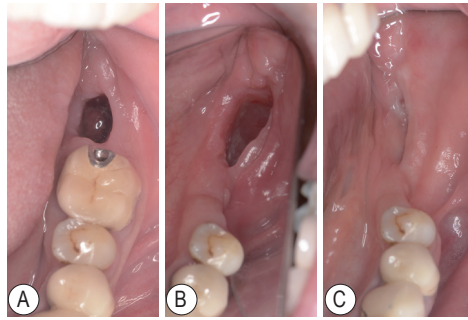


图6 下颌左侧口内照 A: 术前; B: 术后6周; C: 术后7个月

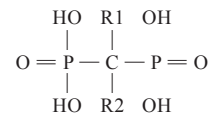


图8 双膦酸盐的化学结构。R1和R2表示双膦酸盐的侧链^[3]



图7 下颌左侧术后7个月CBCT未见新的死骨形成 A: 局部冠状位; B: 局部矢状位; C、D: 分别为局部高、低水平位

讨 论

双膦酸盐(Bisphosphonates, BPs)为一类骨吸收抑制剂,临床多用于治疗骨质疏松症、恶性骨肿瘤或恶性肿瘤骨转移、佩吉特病等^[2]。该类药物中P-C-P化学基本结构相同(图8)^[3],这种结构很稳定,体内缺乏其水解酶,且该结构与骨骼中的羟基磷灰石成分有很高的结合能力^[4-5]。双膦酸盐主要具有抑制骨吸收和抑制矿化的作用,因侧链连接不同化学基团,各种双膦酸盐所具有的双重作用强度并不相同,因此可产生的临床效果也不同^[6]。双膦酸盐可分为含氮和不含氮两类,含氮类作用强于不含氮类。含氮类常见有阿仑膦酸盐、利塞膦酸盐、依班膦酸盐、唑来膦酸等^[6]。目前有口服和静脉给药两种途径。

双膦酸盐药物广泛应用于临床,而颌骨坏死为双膦

酸盐药物使用中一种比较严重的并发症。双膦酸盐相关性颌骨坏死定义要点包括:正在接受双膦酸盐类药物治疗或有双膦酸盐药物治疗史;存在口腔颌面部死骨,病程长于8周;无头颈部放疗史^[7]。

临床上,BRONJ可表现为持续8周以上、骨暴露呈黄白色;而在骨坏死发生之前,症状和体征可表现为:拔牙窝不愈合、

疼痛、牙移位、溃疡、黏膜肿胀或脓性病变^[3,8]。

1.发病机制与相关因素:目前,双膦酸盐引起颌骨坏死的发病机制尚未明确。可能机制有以下几种:第一,与双膦酸盐抑制破骨细胞功能有关,可抑制骨重塑,长期用药可增加骨脆性,骨的微损伤增多^[6,9]。第二,与血供受损有关。双膦酸盐药物作用于血管,抑制血管内皮细胞迁移黏附功能,新血管生成受到抑制,造成局部缺血缺氧^[10-12]。尤其是唑来膦酸,其抗血管生成活性作用在多篇报道中均得到证实。双膦酸盐相关性颌骨坏死的发病相关因素众多,最主要的因素包括:

(1)双膦酸盐的类型、总剂量和使用时间^[8,13]:根据用药方式与使用的药物不同,发病率与发病时间有明显差异。例如,Durie BGM等学者认为唑来膦酸的风险高于帕米膦酸^[14];Palaska PK的研究显示静脉注射唑来膦酸后骨坏死发生的时间平均为1.8年,静脉注射帕米膦

酸盐则为 2.8 年,口服阿仑膦酸盐等骨坏死发生的时间平均为 4.6 年^[15]。在接受低剂量口服双膦酸盐治疗骨质疏松症的患者中,颌骨坏死的发生率远远低于接受高剂量治疗转移癌的患者^[16]。同时,由于双膦酸盐进入人体可沉积数年无法彻底代谢,使得破骨细胞被抑制的作用可持续数年。Bamias A 等的研究也表明,用药 5 年后,发病率仍在持续上升^[13]。

(2) 口腔治疗史:常在接受双膦酸盐治疗患者进行拔牙、种植手术、根尖周手术、牙周手术等口腔颌面外科操作之后。然而, Bamias A 所报道的病例中有 2 例并未接受过口腔治疗,也未使用过义齿^[13]。Franco-Preto E 也提到有的患者在没有手术干预的情况下出现了双膦酸盐相关的颌骨坏死^[17]。

(3) 患者年龄和性别:接受双膦酸盐治疗的患者年龄越大 BRONJ 发病率越高^[18];曾有观点认为女性发病率高于男性发病率,但 Ruggiero SL 等在 2009 年更新的治疗指南中指出性别与 BRONJ 无统计学相关性^[7]。

(4) 癌症类型:接受双膦酸盐治疗的不同类型癌症患者中,目前文献中统计 BRONJ 发病率最高的为骨髓瘤,其次为乳腺癌,再次为前列腺癌^[8, 16, 19]。

(5) 局部解剖因素:据观察,下颌发病率约为上颌的 2 倍;腭隆突、下颌舌骨嵴等骨质突起、覆盖黏膜较薄处更为常见^[7, 20]。

(6) 其他因素:可能还包括皮质激素治疗、糖尿病、吸烟、酗酒、口腔卫生不良等^[8, 19]都可成为 BRONJ 发病的促进因素。

本文病例规律静脉注射唑来膦酸约 4 年,期间行种植手术,同时,血糖偏高、口腔卫生差。符合既往研究结果中对于 BRONJ 发病相关因素的认知。

2. 预防

(1) 使用双膦酸盐治疗前,须行系统口腔检查,进行全面口腔评估,排除所有潜在感染源,行积极的牙体牙髓、牙周及修复治疗,帮助患者保持良好的口腔卫生以降低患病风险^[20]。Dimopoulos MA、Ripamonti CI 等研究报告表明,对于静脉注射双膦酸盐的癌症患者,预防性口腔治疗如拍摄曲面体层放射线片及监测龋齿、牙周炎等口腔情况可降低颌骨坏死发生风险^[21-22]。目前认为,良好的口腔卫生以及定期口腔检查护理是降低 BRONJ 发病风险的最好方法^[16]。

(2) 在进行种植、拔牙和牙周手术等有创治疗前,务必向患者确认是否有双膦酸盐用药史。

(3) 对于服用双膦酸盐药物超过 3 年的患者,建议术前术后停药 3 个月,这可能利于 BRONJ 的预防与治疗^[23]。

(4) 建议术后严密关闭手术创口。Abtahi J 等人通过动物实验推断,使用双膦酸盐的患者拔牙后立即行黏骨膜覆盖新暴露的骨面可能会降低颌骨坏死的风险^[24]。

3. 治疗:按照 2009 年更新的美国口腔颌面外科协会(American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons, AAOMS)的 BRONJ 治疗指南^[7],患者可分为:(1) 有危险倾向:患者已接受双膦酸盐静脉或口服给药,无症状,未见明显骨坏死。(2) 0 期:患者无临床证据显示骨坏死,但有非特异性症状或临床/放射影像学表现(非牙源性牙痛、下颌隐痛、非牙周炎引起的牙松动等)。(3) I 期:患者存在骨暴露及骨坏死,但无其他自觉症状、无感染。(4) II 期:患者存在骨暴露及骨坏死,伴有疼痛及感染,表现为骨暴露区域红肿、疼痛以及伴/不伴排脓。(5) III 期:患者存在骨暴露及骨坏死,伴有疼痛、感染及以下一条或多条:死骨暴露范围超过牙槽骨,累及下颌下缘、下颌支、上颌窦、颧骨等;病理性骨折;口外瘘;口腔与上颌窦或与鼻腔相通;骨溶解范围延伸至窦底或下颌下缘。

BRONJ 的治疗方案众说纷纭,双膦酸盐相关性颌骨坏死暂时并无特别有效的治疗方法,现有方法多为对症治疗,以达到消除疼痛、控制软组织和硬组织的继发感染、尽量延缓骨坏死的进展或发生的目的。尽管 AAOMS 也给出了分级对应的治疗原则,但仍存在广泛争议。总体而言,大致可分为保守治疗、手术治疗和辅助性治疗等。

(1) 保守治疗:对于病变早期(一般为 0 期、I 期、II 期)的患者,保守治疗方法主要包括对症治疗、处理龋病等局部危险因素、0.12% 氯己定含漱液含漱、保持口腔卫生、定期随访、抗菌药物治疗等^[7-8, 19, 25]。推荐使用青霉素 V 钾,必要时增加甲硝唑,如青霉素过敏,可使用克林霉素、多西环素和红霉素替代^[25]。

(2) 手术治疗:对于处于 II 期 2 保守治疗无效者及 III 期的患者,推荐行积极的清创术甚至根治性切除术,去除死骨、清除肉芽组织、拔除坏死区域内有症状的牙。需注意严格选择适应证,控制术区范围,尽可能减轻手术创伤^[7-8, 19, 25]。

(3) 辅助性治疗:常见高压氧治疗及激光治疗。临床研究显示使用高压氧辅助治疗有一定效果,有文献报道通过高压氧辅助治疗患者病情可有效获得缓解或好转^[26]。此外,低能量激光可以促进骨和软组织的愈合,具有杀菌和生物活化功能。在 BRONJ 治疗中,低能量激光的应用也取得了较好的效果^[27]。但仍需进一步的前瞻性研究。

按照 2009 年美国口腔颌面外科协会对 BRONJ 分期和治疗指南,对患者使用手术治疗。本病例在手术去除死骨时,除术前通过影像学判定死骨范围,在术中,结合使用内镜,精准观察判断受累骨质,避免过度损伤。

尽管本例患者术后恢复良好,但由于双膦酸盐相关性颌骨坏死会给患者带来极大痛苦,且目前机制尚未明确、治疗方案尚不能达到理想效果,因此还需预防为先。如何进一步防治这一并发症,有待更深入的研究。

利益冲突 本文作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2003, 61(9):1115-1117. DOI: 10.1016/s0278-2391(03)00720-1.
- [2] Favus MJ. Diabetes and the risk of osteonecrosis of the jaw[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(3):817-818. DOI: 10.1210/jc.2007-0098.
- [3] Rasmusson L, Abtahi J. Bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw: an update on pathophysiology, risk factors, and treatment[J]. *Int J Dent*, 2014, 2014:471035. DOI: 10.1155/2014/471035.
- [4] 李俊. 临床药理学. 第 4 版 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008, 319.
- [5] 刘东刚, 王杰军. 双磷酸盐类药物的发展 [J]. *中国肿瘤临床*, 2003, 30(9):678-683. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2003.09.025.
- [6] 朱汉民. 双磷酸盐和骨质疏松 [J]. *中国实用内科杂志*, 2011, 31(7):517-520.
- [7] Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--2009 update[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2009, 67(5 Suppl):2-12. DOI: 10.1016/j.joms.2009.01.009.
- [8] Baraldi A, Fusco V, Bellora A, et al. Prevention of bisphosphonates-induced osteonecrosis[J]. *Clin Cases Miner Bone Metab*, 2007, 4(1):58-61.
- [9] Mashiba T, Mori S, Burr DB, et al. The effects of suppressed bone remodeling by bisphosphonates on microdamage accumulation and degree of mineralization in the cortical bone of dog rib[J]. *J Bone Miner Metab*, 2005, 23 Suppl:36-42. DOI: 10.1007/BF03026321.
- [10] Ficarra G, Beninati F. Bisphosphonate-related Osteonecrosis of the Jaws: An Update on Clinical, Pathological and Management Aspects[J]. *Head and Neck Pathology*, 2007, 1(2): 132-140. doi: 10.1007/s12105-007-0033-2. Epub 2007 Dec 5.
- [11] Vincenzi B, Santini D, Dicuonzo G, et al. Zoledronic acid-related angiogenesis modifications and survival in advanced breast cancer patients[J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2005, 25(3):144-151. DOI: 10.1089/jir.2005.25.144.
- [12] Wood J, Bonjean K, Ruetz S, et al. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 302(3):1055-1061. DOI: 10.1124/jpet.102.035295.
- [13] Bamias A, Kastiritis E, Bamia C, et al. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(34):8580-8587. DOI: 10.1200/JCO.2005.02.8670.
- [14] Durie BG, Katz M, Crowley J. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonates[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(1):99-102; discussion 99-102. DOI: 10.1056/NEJM200507073530120.
- [15] Palaska PK, Cartos V, Zavras AI. Bisphosphonates and time to osteonecrosis development[J]. *Oncologist*, 2009, 14(11):1154-1166. DOI: 10.1634/theoncologist.2009-0115.
- [16] Masoodi N A. Oral Bisphosphonates and the Risk for Osteonecrosis of the Jaw[J]. *British Journal of Medical Practitioners*, 2009(2):11-15.
- [17] Franco-Pretto E, Pacheco M, Moreno A, et al. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: clinical, imaging, and histopathology findings[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2014, 118(4):408-417. DOI: 10.1016/j.oooo.2014.04.017.
- [18] Badros A, Weikel D, Salama A, et al. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(6):945-952. DOI: 10.1200/JCO.2005.04.2465.
- [19] Surgeons M. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. [J]. *J Oral Maxillofac*, 2007, 65(3):369-376. DOI: 10.1016/j.joms.2006.11.003.
- [20] Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, et al. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2005, 63(11):1567-1575. DOI: 10.1016/j.joms.2005.07.010.
- [21] Dimopoulos MA, Kastiritis E, Bamia C, et al. Reduction of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after implementation of preventive measures in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid[J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(1):117-120. DOI: 10.1093/annonc/mdn554.
- [22] Ripamonti CI, Maniezzo M, Campa T, et al. Decreased occurrence of osteonecrosis of the jaw after implementation of dental preventive measures in solid tumour patients with bone metastases treated with bisphosphonates. The experience of the National Cancer Institute of Milan[J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(1):137-145. DOI: 10.1093/annonc/mdn526.
- [23] Heng C, Badner VM, Vakkas TG, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in patients with osteoporosis[J]. *Am Fam Physician*, 2012, 85(12):1134-1141.
- [24] Abtahi J, Agholme F, Aspenberg P. Prevention of osteonecrosis of the jaw by mucoperiosteal coverage in a rat model[J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2013, 42(5):632-636. DOI: 10.1016/j.ijom.2013.02.007.
- [25] Khan AA, Sándor GK, Dore E, et al. Bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw[J]. *J Rheumatol*, 2009, 36(3):478-490. DOI: 10.3899/jrheum.080759.
- [26] Freiburger JJ. Utility of hyperbaric oxygen in treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2009, 67(5 Suppl):96-106. DOI: 10.1016/j.joms.2008.12.003.
- [27] Vescovi P, Manfredi M, Merigo E, et al. Surgical approach with Er:YAG laser on osteonecrosis of the jaws (ONJ) in patients under bisphosphonate therapy (BPT)[J]. *Lasers Med Sci*, 2010, 25(1):101-113. DOI: 10.1007/s10103-009-0687-y.