

Academiejaar 2014-2015

**“Composietvullingen kunnen de gezondheid schaden”:
De waarheid over lekkend bisfenol-A**

Arend de Visser

Promotor: Prof. dr. Peter De Coster

Masterproef voorgedragen in de Tweede Master in het kader van de opleiding tot

TANDARTS

Academiejaar 2014-2015

**“Composietvullingen kunnen de gezondheid schaden”:
De waarheid over lekkend bisfenol-A**

Arend de Visser

Promotor: Prof. dr. Peter De Coster

Masterproef voorgedragen in de Tweede Master in het kader van de opleiding tot

TANDARTS

TOELATING TOT BRUIKLEEN

De auteur en de promotor geven de toelating deze Masterproef voor consultatie beschikbaar te stellen en delen ervan te kopiëren voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting uitdrukkelijk de bron te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit deze Masterproef.

Datum:

Arend de Visser

(Auteur)

Prof. Dr. Peter De Coster

(Promotor)

VOORWOORD

Hoewel ik op dit moment mijn opleiding tot tandarts nog niet helemaal heb afgerond, mag deze masterproef wel gezien worden als de afsluiting van mijn opleiding. Daarom wil ik graag deze gelegenheid gebruiken om een aantal personen te bedanken voor hun steun en hulp tijdens mijn studies en tijdens het tot stand komen van deze masterproef!

Allereerst wil ik mijn promotor Prof. dr. Peter De Coster bedanken voor zijn hulp en begeleiding bij het tot stand komen van deze masterproef! Dankzij hem ben ik niet verdwaald in de grote hoeveelheid beschikbare informatie over het onderwerp van deze masterproef en kon ik zicht houden op het doel van deze masterproef. De begeleiding bestond uit een ideale mix van ‘vinger-aan-de-pols’ en deadlines, zelfstandigheid en vrijheid.

Verder wil ik in het bijzonder mijn ouders bedanken! Zij hebben mij altijd alle ruimte en mogelijkheden gegeven om te studeren en om mijn doel, tandarts worden, na te streven.

Als laatste wil ik mijn vriendin Esther bedanken! Ze heeft me altijd gesteund en in mij geloofd. Ze heeft me altijd alle ruimte gegeven die ik nodig had om mijn diploma te halen!

Arend-Hendrik

27 april 2015

INHOUDSTAFEL

ABSTRACT	1
1. INLEIDING	3
2. METHODOLOGIE	5
2.1 Bronnen	5
2.2 Zoekstrategie	5
2.3 Studieselectiemethode	6
3. RESULTATEN	7
3.1 Studieselectie.....	7
3.2 Algemene informatie over bisfenol-A.....	11
3.2.1 Wat is bisfenol-A?.....	11
3.2.2 Is bisfenol-A schadelijk voor de gezondheid van de mens?	14
3.2.2.1 De biologische eigenschappen van bisfenol-A	14
3.2.2.2 De toxiciteit van bisfenol-A	18
3.2.2.3 De schadelijke effecten van bisfenol-A op de gezondheid van de mens	23
3.2.3 Bisfenol-A in tandheelkundige materialen.....	26
3.2.3.1 Bisfenol-A-bevattende tandheelkundige materialen	26
3.2.3.2 De vrijstelling van bisfenol-A uit tandheelkundige materialen	30
3.3 Klinische bisfenol-A-lekkage-studies bij de mens	35
4. DISCUSSIE.....	56
5. CONCLUSIE	61
REFERENTIELIJST	63

ABSTRACT

Achtergrond

Bisphenol-A (BPA) is een kunsthar dat in zeer veel materialen voorkomt, maar voornamelijk wordt gebruikt voor de productie van kunststoffen. Uit onderzoek blijkt dat BPA schadelijk kan zijn voor de gezondheid van de mens. BPA kan ook voorkomen in tandheelkundige composietmaterialen (vullingen en sealings). BPA kan door lekkage uit tandheelkundige composietmaterialen vrijgesteld worden aan het speeksel, waardoor deze materialen bijdragen aan de BPA-blootstelling van de mens.

Doelstelling

Het doel van deze masterproef is om door middel van een literatuurstudie te bepalen in welke mate tandheelkundige composietmaterialen bijdragen aan de BPA-blootstelling van de mens. En om te bepalen of de composietmaterialen door deze bijdrage aan de BPA-blootstelling schadelijk kunnen zijn voor de gezondheid van de mens.

Methodologie

Er is een gestructureerde elektronische search gedaan in de volgende online databases: Medline (PUBMED), Web of Science en de Cochrane Library. Tevens zijn door middel van een handsearch diverse journals en de referentielijsten van de gevonden studies nagezocht. In het eerste deel van deze masterproef wordt algemene informatie over BPA gegeven. Er wordt besproken wat BPA is, of BPA schadelijk is voor de gezondheid en het voorkomen van BPA in tandheelkundige materialen wordt besproken. In het tweede deel wordt de vrijstelling van BPA uit tandheelkundige composietmaterialen aan de hand van spekselanalyses bij de mens besproken.

Resultaten

Tandheelkundige composietmaterialen kunnen tot een uur na plaatsen kleine hoeveelheden BPA vrijstellen, waardoor deze materialen in de eerste 24 uur na plaatsen zorgen voor een acute, relevante BPA-blootstelling van de mens. Het is niet duidelijk of tandheelkundige composietmaterialen ook zorgen voor een lage, chronische BPA-blootstelling. De acute blootstelling aan BPA uit tandheelkundige materialen blijft onder de TDI van 50µg/kg lichaamsgewicht/dag. Er zijn echter aanwijzingen dat BPA misschien ook schadelijke

effecten heeft bij chronische blootstellingen aan doses lager dan deze TDI. Daarom heeft de European Food Safety Authority (EFSA) de TDI verlaagd naar 4µg/kg lichaamsgewicht/dag. Deze verlaagde TDI kan in de eerste 24u na het plaatsen van tandheelkundige composietmaterialen wel geëvenaard of misschien zelfs overschreden worden door BPA-lekkage uit deze materialen.

Conclusie

BPA lekt tot een uur na plaatsing uit tandheelkundige materialen. Dit zorgt ervoor dat de patiënt gedurende de eerste 24u na plaatsing van een restauratie kan worden blootgesteld aan doses BPA die schadelijk zijn voor de gezondheid. Totdat er meer duidelijkheid is over de veilige BPA-dosis en een eventuele chronische lekkage van BPA uit tandheelkundige materialen, moet de blootstelling van de patiënt aan BPA uit deze materialen beperkt worden. De tandarts kan de blootstelling beperken door zo veel mogelijk Bis-GMA-vrije of Bis-GMA-arme producten te gebruiken, een maximale conversiegraad van het composietmateriaal na te streven en door bij het plaatsen van het materiaal de zuurstofgeïnhibeerde laag te verwijderen.

1. INLEIDING

Bisfenol-A (BPA) is een kunsthar dat veelvuldig gebruikt wordt voor de productie van plastics. Zo wordt BPA gebruikt, als bestanddeel of hulpstof, bij de productie van polycarbonaten, polyacrylaten, epoxyharsen en polyvinylchlorideplastics. Deze materialen vinden hun toepassing in drank- en voedselverpakkingen, beschermende coatings voor metalen voedselblikken, vuurvertragers, pvc-pijpen, zonnebrilglazen, cd-roms, (thermisch) papier en medische hulpmiddelen. Doordat BPA zo veelvuldig gebruikt wordt, komt het ook voor in het milieu. Bijgevolg wordt de mens dagelijks aan BPA uit diverse producten of uit het milieu blootgesteld (1-4).

BPA is een 'xeno-oestrogeen', waardoor BPA in het lichaam van de mens oestrogene eigenschappen kan hebben. Als xeno-oestrogeen kan BPA het endocriene systeem van de mens verstoren. BPA is daarom ook een zogenaamd 'Endocrine Disrupting Chemical' (EDC). Hoewel de oestrogene eigenschappen van BPA reeds in 1938 ontdekt zijn, wordt BPA tot op heden op zeer grote schaal gebruikt. Lange tijd werd namelijk gedacht dat BPA bij het huidige niveau van blootstelling niet schadelijk is voor de mens. De huidige Tolerable Daily Intake (TDI) van BPA is vastgelegd op $\leq 0,05$ mg per kilo lichaamsgewicht per dag. Recente studies tonen echter aan dat BPA bij lagere doses dan de huidige TDI mogelijk al schadelijke gezondheidseffecten kan hebben, de zogenaamde 'low-dose-effecten'. Zo heeft BPA bij lage doses mogelijk invloed op de (seksuele) ontwikkeling van kinderen en op het ontwikkelen van gedragsstoornissen. BPA wordt ook geassocieerd met diverse vormen van kanker, waaronder borst- en prostaatkanker. Zwangere vrouwen, foetussen en kinderen vormen de risicogroepen voor de gezondheidseffecten van BPA (5-13).

Tandheelkundige composietmaterialen hebben als hoofdbestanddelen monomeren en vulstof. BPA is geen direct bestanddeel van composiet, maar als monomeren worden vaak BPA-derivaten gebruikt. Tevens kan BPA als een onzuiverheid voorkomen in tandheelkundige composieten. Tandheelkundige composietmaterialen worden vaak gebruikt als vullingsmateriaal of voor sealings. Na het in de mond plaatsen van deze vloeibare composietmaterialen worden de monomeren gepolymeriseerd zodat er een hard materiaal ontstaat. Onder invloed van het mondmilieu en onder invloed van slijtage kan het composiet door lekkage deze monomeren vrijstellen in het mondmilieu. Hierbij kan ook BPA vrijkomen

in het mondmilieu. Doordat tandheelkundige vullingen en sealings BPA kunnen vrijstellen, dragen ze bij aan de BPA-blootstelling van de mens. Speekselanalyses tonen dan ook aan dat vullingen en sealings na het plaatsen BPA vrijstellen in het speeksel (14-18).

De vraag die gesteld kan worden is of de BPA-bevattende tandheelkundige materialen schadelijk zijn voor de gezondheid. Hoeveel BPA wordt er vrijgesteld door vullingen en sealings? Is deze hoeveelheid BPA schadelijk voor de gezondheid? En kan deze BPA-blootstelling voorkomen of verminderd worden? Deze masterproef probeert op deze vragen een antwoord te geven. Hiervoor wordt eerst algemene informatie over BPA gegeven, waarbij de toxiciteit van BPA en het voorkomen van BPA in tandheelkundige materialen wordt besproken. Vervolgens wordt de vrijstelling van BPA uit tandheelkundige materialen aan de hand van speekselanalyses bij de mens besproken. Met behulp van deze informatie wordt geprobeerd om richtlijnen voor de tandarts op te stellen om de BPA-blootstelling uit tandheelkundige materialen zo veel mogelijk te beperken.

2. METHODOLOGIE

2.1 Bronnen

Voor dit literatuuronderzoek is een gestructureerde elektronische search gedaan in de volgende bronnen: Medline (PUBMED), Web of Science en de Cochrane Library.

Verder is er een handsearch gedaan in een aantal journals waarbij de volgende journals zijn onderzocht:

- Critical reviews in Toxicology (Volume 1 t/m 44, Nummer 3)
- Dental Materials (Volume 1 t/m 30, Issue 1)
- Dental materials journal (Volume 1-33, Nummer 2)
- Journal of material science: Materials in Medicine (Volume 8 t/m 45, Nummer 4)
- Journal of biomedical materials research part A (Volume 1 t/m 102)
- Journal of biomedical materials research part B (Volume 1 t/m 102)

De referentielijsten van de gevonden artikelen zijn ook onderzocht en interessante verwijzingen zijn opgezocht.

2.2 Zoekstrategie

Bij de elektronische search is gebruik gemaakt van de zoektermen: Bisphenol a, toxicity, toxicology, dental materials, dental restorations, permanent dental restorations, dental restoration wear, dental sealings, release, leakage, degradation, wear, 17b-estradiol. Diverse combinaties van deze termen zijn gebruikt als zoekstring.

Elke zoekopdracht is eerst uitgevoerd met de volgende limits: Humans, clinical trial, meta-analysis, systematic reviews, randomized controlled trial, reviews, case reports, in vitro, clinical conference, comparative study, congresses, consensus development conference, controlled clinical trial, english, dutch, abstract available.

Als een zoekopdracht met bovenstaande limits te veel resultaten opleverde, dan is dezelfde zoekopdracht nog eens herhaald met de volgende limits: Meta-analysis, systematic reviews, reviews, humans, english, dutch, abstract available. Op deze manier is de grote hoeveelheid literatuur beperkt tot de artikelen met de hoogste graad van evidence.

Tijdens de handsearch zijn alle artikelen geselecteerd die op basis van hun titel en abstract aannemelijk betrekking hebben op het onderwerp van deze masterproef.

2.3 Studietoetsmethode

De gevonden artikelen zijn eerst op basis van hun titel en abstract geselecteerd. Eventuele exclusie van deze 'first search articles' heeft plaatsgevonden om de volgende redenen: abstract niet beschikbaar, artikel is geschreven in een andere taal dan de Nederlandse of Engelse taal, het onderwerp is niet relevant, de full-text is niet beschikbaar.

Vervolgens zijn de full-text-artikelen gelezen. Niet relevante artikelen zijn geëxcludeerd. De resterende, relevante artikelen hebben als bron gediend voor het eerste deel van deze masterproef, waarin algemene informatie over BPA (hoofdstuk 3.2) wordt gegeven.

In het tweede deel van deze masterproef (hoofdstuk 3.3) wordt ingegaan op de vrijstelling van BPA uit tandheelkundige composietmaterialen en de bijdrage hiervan aan de BPA-blootstelling van de mens. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van klinische-, in-vivo-studies waarvoor bij mensen speekselanalyses zijn gedaan om de vrijstelling van BPA uit tandheelkundige sealings of composietrestauraties te onderzoeken. De hiervoor relevante studies zijn uit de first search articles geselecteerd. Exclusie van first search articles heeft plaatsgevonden om de volgende redenen: geen fulltext beschikbaar, overlappende studies, het onderwerp is niet relevant.

De overgebleven studies zijn geïnccludeerd voor een full-tekst-analyse. Exclusie van full-tekst-artikelen heeft plaatsgevonden om de volgende redenen: onjuist studiedesign, de benodigde data zijn niet beschikbaar.

De resterende studies zijn methodologisch beoordeeld met behulp van de voor de betreffende studies relevante checklists van de Dutch Cochrane Collaboration (19). Indien studies in dit stadium zijn geëxcludeerd, dan wordt dit per artikel gemotiveerd. De overgebleven artikelen zijn geïnccludeerd voor een data-analyse.

3. RESULTATEN

3.1 Studietoets

In **Tabel 1** en **Tabel 2** staan de details van de elektronische zoekacties. De details van de handsearch in de journals staan in **Tabel 3**.

Tabel 1: Bron Medline (PUBMED)						
Datum	Terms	Limits*	Hits	Relevante	Full	Abstracts
21-11-2013	bisphenol a AND toxicity	2	113	60	45	15
28-11-2013	bisphenol a AND dental materials	2	51	14	7	7
10-12-2013	bisphenol a AND (permanent dental restorations)	2	16	1	0	1
10-12-2013	bisphenol a AND (dental restoration wear)	1	55	0	0	0
27-03-2014	bisphenol a AND toxicity AND "2013/11/21 15.00"[MHDA] : "2014/03/27 15.00"[MHDA]	2	2	1	1	0
27-03-2014	(bisphenol a AND toxicology) NOT (bisphenol a AND toxicity)	2	5	4	3	1
03-04-2014	bisphenol a AND (dental materials OR dental restorations OR dental sealings) AND (release OR leakage OR degradation OR wear)	1	423	14	10	4
17-12-2014	17b estradiol	2	6	1	1	0
Totaal:			671	95	67	28

- * 1 = humans, clinical trial, meta-analysis, systematic reviews, randomized controlled trial, review, case reports, in vitro, clinical conference, comparative study, congresses, consensus development conference, controlled clinical trial, english, dutch, abstract available
- * 2= meta-analysis, systematic reviews, reviews, humans, english, dutch, abstract available

Tabel 2: Bron Web of Science						
Datum	Terms	Limits	Hits	Relevante	Full	Abstracts
27-03-2014	Bisphenol a AND (toxicity OR toxicology)		83	4	3	1
03-04-2014	bisphenol A AND dental materials		201	38	27	11
03-04-2014	bisphenol A AND permanent dental restorations		2	0	0	0
03-04-2014	bisphenol A AND (dental materials OR dental restorations OR dental sealings) AND (release OR leakage OR degredation OR wear)		70	3	1	2
Totaal:			356	45	31	14

Tabel 3: Handsearch (Journals)			
Datum	Bron	Relevante	Full
04-04-2014	Critical reviews in Toxicology (Vol. 1 – 44, No.3)	0	0
04-04-2014	Dental Materials (Vol. 1 – 30, Issue 1)	3	3
04-04-2014	Dental materials journal (Vol. 1 – 33, No. 2)	6	6
04-04-2014	Journal of material science: Materials in Medicine (Vol. 8 – 45, No.4)	1	1
04-04-2014	Journal of biomedical materials research part A (Vol. 1 - 102)	3	3
04-04-2014	Journal of biomedical materials research part B (Vol. 1 – 102)	2	2
Totaal:		15	15

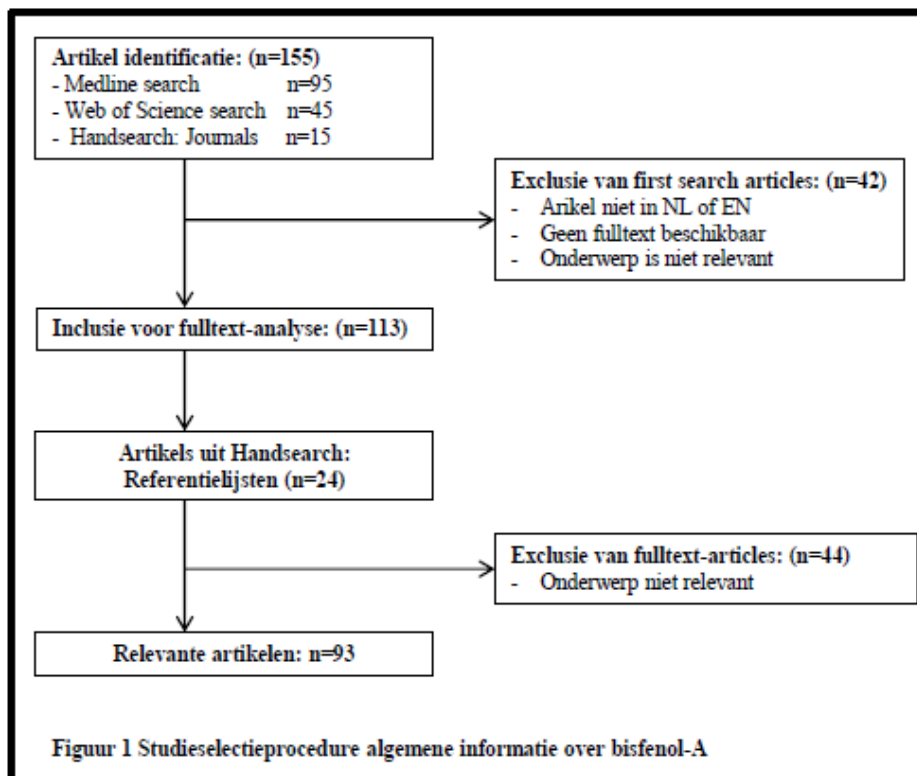
De handsearch in de referentielijsten van de gevonden studies heeft nog eens 24 artikelen opgeleverd waarvan ook de fulltext is verkregen.

De Cochrane Library bevatte op 21-11-2013 geen studies aangaande BPA.

In **Tabel 4** zijn de zoekacties samengevat. Van de 179 relevante hits zijn 137 fulltext-artikelen verkregen.

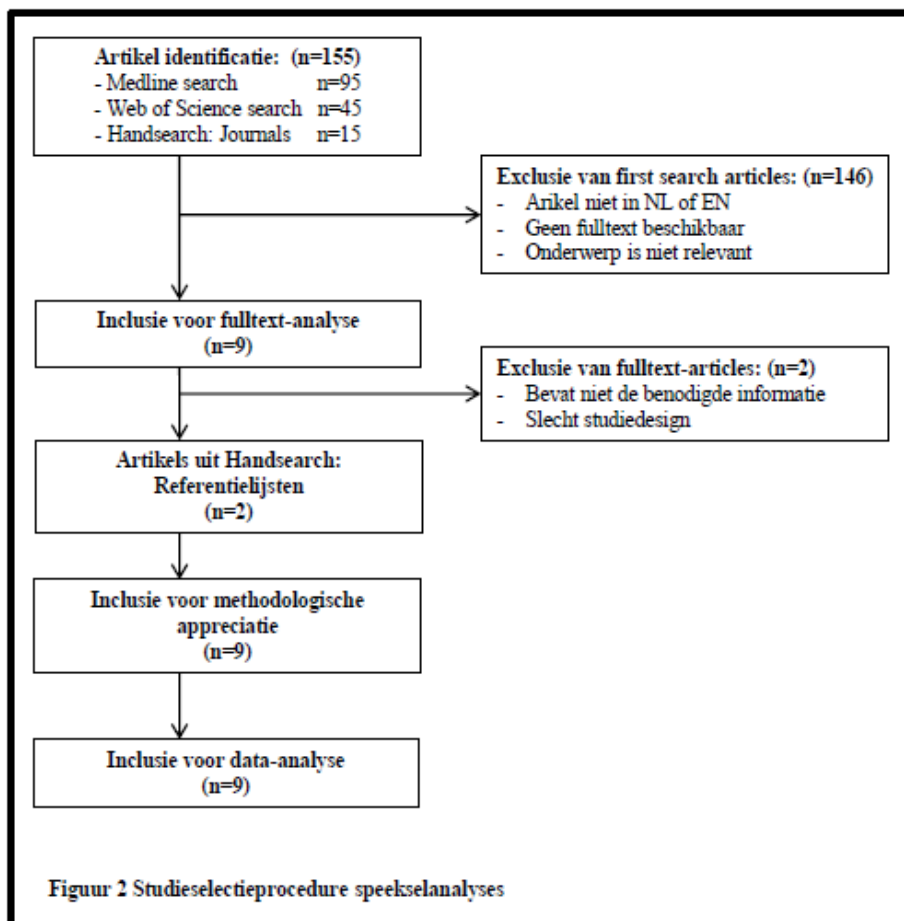
Tabel 4: Totaal				
Bron:	Hits	Relevante	Full	Abstract
Medline	671	95	67	28
Web of Science	356	45	31	14
Handsearch: Journals	15	15	15	
Handsearch: Referentielijsten	24	24	24	
Totaal:	1066	179	137	42

Zie **Figuur 1** voor de selectieprocedure voor het eerste deel van deze masterproef met algemene informatie over BPA.



Voor het tweede deel van deze masterproef dat de speekselanalyses bij de mens bespreekt, zijn 9 studies geselecteerd voor fulltext-analyse. Na het lezen van de fulltext zijn twee studies geëxcludeerd: Eén studie onderzocht wel de vrijstelling van monomeren uit composietvullingen in speeksel, maar analyseerde niet het voorkomen van BPA in het speeksel. Een andere studie onderzocht de BPA-concentratie in speeksel na restauratie, maar had geen controlegroep of baseline-concentratie bepaald. Deze studie is daarom geëxcludeerd omwille van een slecht studiedesign.

De referentielijsten van de zeven overgebleven studies bevatten twee interessante referenties en de twee betreffende studies zijn ook geïnccludeerd voor een methodologische beoordeling. Na de methodologische beoordeling met behulp van de relevante checklists van de Dutch Cochrane Collaboration zijn er geen studies geëxcludeerd (19). Er zijn dus negen studies overgebleven voor de data-analyse. Zie **Figuur 2** voor deze selectieprocedure.



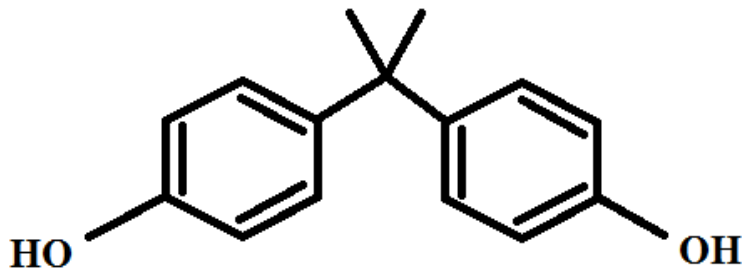
3.2 Algemene informatie over bisfenol-A

3.2.1 Wat is bisfenol-A?

Bisfenol-A (BPA) ofwel 2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propan is een industrieel geproduceerd (synthetisch) kunsthar dat ontstaat door de condensatie van twee fenolgroepen met een aceton-groep. De eerste keer dat BPA werd gesynthetiseerd was in 1891. BPA wordt meestal gebruikt als intermediair bij de productie van polymeren, zoals polycarbonaat, polyesters, epoxyharsen en poly-acrylaten. Verder wordt BPA gebruikt als antioxidant en inhibitor in het polymerisatieproces van polyvinylchlorideplastics (pvc's). Ook wordt BPA gebruikt bij de productie van vlamvertragers, zoals tetrabroombisfenol-A (1-3).

De chemie van bisfenol-A

BPA, met de molecuulformule $C_{15}H_{16}O_2$ bestaat uit twee fenolringen (benzeenring met een hydroxylgroep) die met elkaar verbonden zijn door een methyl-brug. Op deze methyl-brug zijn twee functionele methyl-groepen aangehecht. (Zie **Afbeelding 1**)



Afbeelding 1: Bisfenol-A (Eigen werk)

Zoals reeds is vermeld, wordt BPA geproduceerd door de condensatie van twee fenolgroepen met een acetongroep. Dit gebeurt bij lage pH en hoge temperatuur met behulp van katalysators en katalysator-promotors. Het reactieproduct wordt gezuiverd door middel van destillatie. Het gedroogde BPA-destillaat vormt pillen, vlokken of kristallen. Zie **Tabel 5** voor een aantal algemene chemische eigenschappen van BPA (1-4, 20).

Tabel 5: Chemische eigenschappen bisfenol-A (PubChem 6623) (20)

Alternatieve benamingen:	BPA 2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propan 4,4'-dihydroxy-2,2-diphenylpropan 4,4'-Isopropylidenediphenol Diano Diphenylolpropan
Molecuulformule:	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
IUPAC-naam:	4-[2-(4-hydroxyphenyl)propan-2-yl]phenol
CAS (Chemical Abstract Service):	80-05-7
EC-nummer (European Community number):	201-245-8
Moleculair gewicht:	228.28634 g/mol
Kookpunt:	360.5 °C bij 760 mm Hg
Smeltpunt:	153 °C
Oplosbaarheid:	300mg/L bij 25 °C
Dampdruk:	4,0.10-8 mm Hg bij 25 °C
Aggregatietoestand:	Vast (poeder, vlokken, pillen, kristallen)

Het gebruik van bisfenol-A

BPA wordt regelmatig toegepast als intermediair bij de productie van polycarbonaten, epoxyharsen, poly-acrylaten, polyvinylchlorideplastics (pvc's) en vlamvertragers. Deze materialen zijn de grondstoffen en/of bestanddelen voor talrijke eindproducten. Polycarbonaat wordt onder andere gebruikt voor de productie van plastic flessen, voedselverpakkingen, babyflessen en (voor de magnetron geschikte) schalen en bakjes om voedsel in te bewaren. Ook epoxyharsen worden aangewend voor de productie van materialen die in contact komen met voedsel. Zo worden epoxyharsen vaak gebruikt als coating in voedselblikken of voor de coating van metalen deksels voor (glazen) potten. Pvc's worden gebruikt voor de productie van pvc-pijpleidingen. Vlamvertragers kunnen in de meest uiteenlopende producten voorkomen, maar bevinden zich vooral in elektronica en elektrische apparaten. De genoemde grondstoffen komen echter in nog veel meer producten voor, zoals: adhesieven, cd's/dvd's, zonnebrillen, thermisch-papier, papiercoatings, bouwmaterialen, auto-onderdelen, autobanden, beschermende coatings, medische hulpmiddelen, vliegtuigmaterialen en tandheelkundige materialen (1-4, 14, 21).

De blootstelling van de mens aan bisfenol-A

De mens wordt op verschillende manieren blootgesteld aan BPA. Ten eerste vindt er een blootstelling aan BPA plaats vanuit de lucht. Bij de productie van BPA of van producten waarbij BPA nodig is voor de productie, komt BPA vrij in de lucht. Ook kan uit BPA-houdende producten door gebruik, slijtage, verwarming en contact met vloeistoffen BPA vrijkomen in de lucht. De hoeveelheid BPA die vrijgesteld wordt in de atmosfeer is verwaarloosbaar. Tevens verdwijnt BPA binnen een paar uur uit de atmosfeer doordat het foto-oxideert of neerslaat als partikels. De blootstelling van de mens aan BPA in de lucht is dus verwaarloosbaar. Enkel de arbeiders in de fabrieken waar BPA geproduceerd of gebruikt wordt, worden blootgesteld aan hogere BPA-concentraties in de lucht (1, 4).

De mens wordt ook blootgesteld aan BPA via het oppervlaktewater. Fabrieken die BPA produceren of gebruiken stellen BPA vrij aan oppervlaktewater door het afvalwater dat zij lozen. Daarnaast kan BPA uit BPA-houdende producten uiteindelijk terecht komen in oppervlaktewater. BPA-houdend afval en de verwerking ervan draagt hier in belangrijke mate aan bij. De BPA-concentratie in oppervlaktewater is, net als in de lucht, zeer beperkt. Dit komt enerzijds doordat het BPA wordt afgezet in de bodem en aan het sediment en anderzijds doordat het BPA wordt opgenomen door in het water levende organismen. Het BPA in de bodem en in het sediment verdwijnt door biodegradatie door de microbiële populatie. De in het water levende organismen, zoals algen en vissen, kunnen dankzij hun metabolisme het BPA waaraan ze worden blootgesteld grotendeels verwijderen uit hun lichaam. Ondanks dit metabolisme kan BPA in beperkte mate accumuleren in vissen en in andere in het water levende organismen. Hierdoor kan de mens door het eten van in water levende organismen ('seafood') blootgesteld worden aan BPA uit oppervlaktewater (1, 4).

Een derde wijze waarop de mens wordt blootgesteld aan BPA is door gebruik, manipulatie en slijtage van BPA-houdende producten. Deze vorm van blootstelling vindt plaats door oraal of dermaal contact. Zo draagt bijvoorbeeld het dermaal contact met thermisch papier, dat onder andere in kassa's en betaalautomaten wordt gebruikt, bij aan de blootstelling aan BPA (3).

De voornaamste bron waardoor mensen in aanraking komen met BPA is echter voedsel. Seafood en water zijn reeds genoemd als BPA-bronnen. Daarnaast is heel veel voedsel verpakt in blikken, dozen, containers, flessen, bakjes, of andere verpakkingsmaterialen, die

BPA bevatten. Zo zijn metalen blikken vaak bedekt met een BPA-bevattende coating op basis van een epoxyhars. Flessen en containers bestaan vaak uit polycarbonaat wat BPA bevat. Het BPA in deze producten kan door migratie in voedsel en vloeistoffen terecht komen. Mogelijk speelt verhitting een rol bij de vrijstelling van BPA uit deze materialen. Verhitting vindt onder andere plaats in de magnetron en bij het afwassen van deze flessen, opberg- en verpakkingsmaterialen (2-4).

Aan de hand van biomonitoring-studies wordt op basis van urineonderzoek de dagelijkse blootstelling van de mens aan BPA geschat op $<1\mu\text{g/kg}$ lichaamsgewicht/dag. Blootstelling door voedsel is verantwoordelijk voor meer dan 90% van de totale blootstelling. De blootstelling aan BPA door voedsel is goed onderzocht, maar over de blootstelling door andere bronnen is weinig bekend. Ook over de factoren die een rol spelen in de BPA-vrijstelling is weinig onderzoek beschikbaar. Daar komt bij dat nog niet alle bronnen waar BPA in voorkomt zijn geïdentificeerd (2-4, 21, 22).

3.2.2 Is bisfenol-A schadelijk voor de gezondheid van de mens?

3.2.2.1 De biologische eigenschappen van bisfenol-A

De metabolisatie van bisfenol-A

Lichaamsvreemde stoffen en medicatie worden afgebroken door de lever. Deze afbraakprocessen kunnen verdeeld worden in Fase-I- en Fase-II- reacties. Fase-I reacties, met als belangrijkste enzym het P450-enzym, maken een chemische verbinding meer geschikt om de Fase-II-reacties te ondergaan. Vervolgens zorgen de Fase-II-reacties ervoor dat de chemische verbindingen geïnactiveerd worden en meer geschikt worden voor excretie. Soms kunnen de chemische verbindingen ook direct de Fase-II-reacties ondergaan zonder voorafgaande transformatie door Fase-I-reacties. Bij deze Fase-II-biotransformatie ondergaan de chemische verbindingen conjugatiereacties zoals glucuronidatie, acetylatie, methylatie, glutathione- en aminozuurconjugatie. Enzymen als UDP-glucuronosyltransferase(UGT) en glutathione-S-transferase spelen hierin een belangrijke rol. Deze reacties resulteren in meer hydrofiele verbindingen die gemakkelijker geëxcreteerd kunnen worden(23).

BPA wordt geconjugeerd en geïnactiveerd door UDP-glucuronosyltransferase (UGT). UGT is het belangrijkste enzym van de glucuronidatie, de belangrijkste pathway van het Fase-II-

systeem. UGT's zijn membraangebonden enzymen en komen voornamelijk voor in de lever, maar ze worden ook buiten de lever aangetroffen. UGT's zorgen voor de afbraak van veel xenobiotica (medicijnen, voedselbestanddelen, carcinogenen) en endobiotica (bilirubine, vetoplosbare vitaminen en verschillende hormonen).

UGT's katalyseren de vorming van een chemische binding tussen het substraat en het co-enzym uridine-5'-diphospho- α -D-glucuronic-acid (UDPGA). Na transformatie ontstaat het β -D-glucuronide van het substraat. Dit glucuronide kan gemakkelijk via de gal of via de urine uit het lichaam verwijderd worden (23).

Zoals reeds vermeld vindt blootstelling aan BPA voornamelijk plaats via de inname van voedsel, dus door orale blootstelling. Wanneer BPA vervolgens in de gastro-intestinale-tractus terecht komt, wordt het snel geabsorbeerd in het bloed en vervoerd naar de lever. In de lever ondergaat BPA conjugatie door het enzym uridine-5'-diphospho- α -D-glucuronic-acid (UDPGA). Hierbij wordt bisfenol-A- β -D-glucuronide gevormd. Dit glucuronide wordt door zijn hoge oplosbaarheid vervolgens snel terug aan het bloed afgegeven, via de nieren uit het bloed verwijderd en uitgescheiden door de urine. Dit mechanisme vindt plaats bij doses BPA tot 54-90 mg/kg lichaamsgewicht. Bij hogere doses worden andere BPA-metabolieten gevormd, maar deze doses zijn niet relevant voor de menselijke blootstelling aan BPA. Bijna al het BPA dat in het lichaam terecht komt ondergaat glucuronidatie en wordt binnen 24 uur via de urine uitgescheiden. De glucuronidatie gebeurt snel en slechts een kleine hoeveelheid van het toegediende BPA is beschikbaar voor andere reacties. Een zeer beperkte hoeveelheid van het toegediende BPA is in het lichaam beschikbaar als vrij BPA. Het is het vrije BPA dat verantwoordelijk is voor de gezondheidseffecten (23, 24).

Bisfenol-A als endocrine disrupting chemical

BPA behoort tot de groep van 'endocrine disrupting chemicals' (EDC's). Vrij vertaald staat dit voor 'chemicaliën die het endocriene systeem verstoren'. Dit zijn synthetische chemicaliën die geproduceerd worden voor allerlei toepassingen, maar die als neveneffect hebben dat ze wanneer ze in het lichaam terecht komen het endocriene systeem en de homeostase in het lichaam kunnen beïnvloeden (5).

'The first Scientific Statement of The Endocrine Society' is een statement dat is opgesteld op de Consensus Development Conference ENDO 09 van The Endocrine Society. Dit statement geeft een uitgebreid overzicht van de beschikbare evidence over EDC's (25).

The Endocrine Society spreekt in bredere zin van ‘endocrine disruptors’ omdat er zowel natuurlijke als synthetische stoffen zijn die als EDC kunnen optreden wanneer ze in het lichaam terecht komen. De stoffen die als endocrine disruptor kunnen optreden zijn zeer verschillend. Voorbeelden van endocriene disruptors zijn biphenyls (pcb’s, dioxines), plastics (BPA), pesticiden, fungiciden en medicijnen (5, 7).

Er bestaan ook natuurlijk voorkomende endocrine disruptors, zoals phyto-oestrogenen, die zich in voedsel kunnen bevinden. De EDC’s kunnen sterk verschillen in structuur. Het is dus moeilijk om te voorspellen of een stof een endocrine disruptor zal zijn of niet. Wat alle endocrine disruptors gemeen hebben is dat ze op een of andere wijze het endocriene systeem of de homeostase in het lichaam beïnvloeden wanneer ze in het lichaam terecht komen. Vaak gebeurt dit door het nabootsen van natuurlijke hormonen. Endocriene disruptors kunnen binden aan hormoonreceptoren, maar ze kunnen ook de synthese of het metabolisme van hormonen beïnvloeden. Hierdoor kunnen het endocriene systeem en de homeostase in het lichaam verstoord worden. Afhankelijk van het deel van het endocriene systeem waarop een bepaald EDC invloed heeft, worden de functies van de betreffende hormonen beïnvloed. Hierdoor kunnen EDC’s diverse gezondheidseffecten hebben, zoals: verstoring van het reproductieve stelsel, verstoring van de thyroïd-functie, verstoring van het energiemetabolisme en beïnvloeding van de genexpressie. Mogelijk spelen EDC’s ook een belangrijke rol bij onvruchtbaarheid, vroege pubertijd, diabetes, obesitas, ADHD en diverse kankersoorten zoals prostaat- en borstkanker. Door de grote verscheidenheid in EDC’s kan blootstelling hieraan op vele manieren plaatsvinden. Zo kunnen voedsel, drinkwater en de bodem gecontamineerd zijn met EDC’s. Blootstelling kan ook gebeuren door contact met bepaalde pesticiden, fungiciden en industriële chemicaliën. De EDC’s kunnen door inname, inhalatie en absorptie door de huid of mucosa in het lichaam terecht komen (5-7).

Aangaande de blootstelling en de gevolgen hiervan zijn er voor EDC’s een aantal belangrijke kenmerken (5, 7):

- De leeftijd van een mens waarop de blootstelling plaatsvindt is bepalend voor het effect. Aangezien EDC’s vaak invloed hebben op de groei en ontwikkeling, kunnen de gevolgen van blootstelling aan EDC’s sterk verschillen bij volwassenen en bij kinderen.

- Het effect van blootstelling aan EDC's is vaak een latent effect. Doordat in veel gevallen de groei en ontwikkeling worden beïnvloed, zal het effect zich pas in een later stadium van het leven van een mens manifesteren.
- Aangezien EDC's veelvuldig en op allerlei manieren in de omgeving voorkomen, wordt de gezondheid van het individu vaak beïnvloed door verschillende EDC's die kunnen zorgen voor verschillende gezondheidseffecten. In sommige gevallen kunnen ze elkaars effect zelfs versterken.
- EDC's kunnen niet-traditionele dosis-respons-eigenschappen hebben. EDC's kunnen soms bij zeer lage doses hun effect al uitoefenen (low-dose-effecten). Dit is zeker het geval in bepaalde stadia van groei en ontwikkeling. Lagere doses kunnen soms zelfs potenter zijn dan hogere doses.*
- EDC's kunnen transgeneratie-effecten hebben. De kinderen van blootgestelde ouders kunnen ook effecten vertonen, veroorzaakt door EDC's waaraan de ouders zijn blootgesteld. EDC's kunnen namelijk ook invloed hebben op de genexpressie.

** Bij het onderzoek naar gezondheidseffecten van (potentieel schadelijke) chemicaliën worden verschillende doses van de betreffende stof onderzocht op schadelijke effecten. Door verschillende doses te testen kan een relatie tussen doses en effect worden vastgesteld. Dit kan visueel voorgesteld worden in 'dosis-respons-curves', om zo de relatie tussen de concentratie van de chemische stof en het effect op de gezondheid voor te stellen. Bij zogenaamde 'traditionele' dosis-respons-curves stijgt de respons bij toenemende doses. Bijgevolg heeft de curve een stijgend verloop: lage doses hebben geen/weinig effect, grotere doses hebben een groter effect. Dit worden 'monotone'-dosis-respons-curves genoemd. De relatie tussen dosis en effect kan echter ook niet-monotoon zijn. De relatie wijkt dan af van het traditionele verband van toenemende respons bij toenemende doses. De bijbehorende dosis-respons-curve heeft dan ook een ander verloop. Sommige schadelijke stoffen hebben bijvoorbeeld een grotere respons bij lage doses én bij hoge doses, tussenliggende doses kunnen dan een lagere respons hebben. De dosis-respons-curve is bijgevolg U-vormig. Deze zogenaamde 'niet-traditionele' dosis-respons-curves worden niet-monotone-dosis-respons-curves (NMDR-curves) genoemd.*

EDC's kunnen niet-traditionele dosis-respons eigenschappen hebben. In dit geval hebben EDC's vaak schadelijke effecten bij (zeer) lage doses (low-dose-effecten) en bij hoge doses, wat resulteert in een U-vormige dosis-respons-curve (5, 7, 26).

Bisfenol-A als xeno-oestrogeen

BPA is een veelvuldig genoemde EDC. In 1938 werd reeds aangetoond dat BPA oestrogene eigenschappen heeft. Als xeno-oestrogeen kan BPA in het menselijk lichaam oestrogene eigenschappen vertonen en daarom wordt het geclassificeerd als EDC(5, 8).

Oestrogenen zijn steroïdhormonen die ontstaan uit een modificatie van cholesterol en worden geproduceerd in de ovaria en de bijniere. Er zijn verschillende oestrogenen, maar 17- β -estradiol is het belangrijkste. Oestrogenen hebben vooral een functie in de ontwikkeling van vrouwelijke geslachtseigenschappen en vruchtbaarheid door hun invloed op de baarmoeder en ovaria. Ze hebben echter ook invloed op hersenen, borst, hart, bloedvaten, immuunsysteem, blaas, huid en beenderen(5, 8).

Oestrogenen komen in hogere concentraties voor bij vrouwen dan bij mannen. Ze oefenen hun functie uit door de in verschillende weefsels en organen aanwezige oestrogeenreceptoren te activeren. Deze oestrogeenreceptoren kunnen in drie groepen verdeeld worden: nucleaire oestrogeenreceptoren ($ER\alpha$ en $ER\beta$), membraangebonden oestrogeenreceptoren en de oestrogeen-G-eiwit-gekoppelde-receptoren (GPR30). De oestrogeenreceptoren functioneren als DNA-transcriptiefactor waarmee genexpressie wordt gereguleerd. Door deze genexpressie oefenen oestrogenen uiteindelijk hun functie uit (5, 8).

Als xeno-oestrogeen is BPA in staat om de $ER\alpha$, $ER\beta$ en de membraangebonden oestrogeenreceptoren te binden en hierdoor een reactie te veroorzaken die gelijk is aan de reactie van deze receptoren na binding van oestrogenen. Toch is BPA niet in staat om alle genen die gestimuleerd worden door oestrogenen te stimuleren. Door de capaciteit van BPA om oestrogeenreceptoren te binden is BPA in staat om invloed uit te oefenen op de ontwikkeling en het functioneren van de mens (5).

3.2.2.2 De toxiciteit van bisfenol-A

De TDI, NOAEL en LOAEL van bisfenol-A

Op dit moment wordt voor BPA over het algemeen een Tolerable Daily Intake (TDI) van 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lichaamsgewicht/dag gehanteerd. Deze TDI is afgeleid van de No-Observed-Adverse-Effect-Level (NOAEL) van 5 mg BPA/kg lichaamsgewicht/dag (27).*

* Voor het inschatten van gezondheidseffecten door blootstelling aan (potentieel) schadelijke stoffen worden door middel van proefdieronderzoek onder andere de NOAEL en/of de LOAEL (Lowest-Observed-Adverse-Effect-Level) bepaald. De United States Environmental Protection Agency (EPA, 2015, Step 2 - Dose-Response Assessment, par. 3) definieert de NOAEL als: “Het hoogste niveau van blootstelling bij dewelke geen statistisch of biologisch significante toenames worden gezien van de frequentie of hevigheid van nadelige effecten in de blootgestelde populatie vergeleken met de controlegroep”(28). De EPA (EPA, 2015, Step 2 - Dose-Response Assessment, par. 3) definieert de LOAEL als: Het laagste niveau van blootstelling bij dewelke er biologisch significante toenames zijn in frequentie of hevigheid van nadelige effecten in de blootgestelde populatie vergeleken met de controle-groep”(28). Van de NOAEL of van de LOAEL wordt de ‘reference dose’ RfD of ook wel TDI afgeleid. Deze wordt door de EPA (EPA, 2015, Step 2 - Dose-Response Assessment, par. 3) gedefinieerd als: “Een inschatting van een dagelijkse orale blootstelling van de menselijke populatie gedurende een mensenleven die waarschijnlijk zonder een merkbaar risico op schadelijke effecten is.”(28)

Voor de afleiding van een humane TDI wordt de NOAEL of LOAEL, die getest is op proefdieren, gedeeld door een aantal onzekerheidsfactoren (Uncertainty Factors, (UFs)). Deze onzekerheidsfactoren worden met elkaar vermenigvuldigd:

$$RfD (TDI) = NOAEL/UFs \text{ of } RfD (TDI) = LOAEL/UFs$$

Voor de variatie tussen het geteste proefdiersoort en de menselijke soort wordt doorgaans een onzekerheidsfactor van 10 genomen. Voor de variatie binnen de menselijke populatie wordt nog eens een onzekerheidsfactor van 10 genomen. Dit brengt het totaal van de UFs op $10 \times 10 = 100$

Voor BPA werd aldus de TDI vastgesteld op:

$$NOAEL = 5 \text{ mg/kg lichaamsgewicht/dag, } UFs = 100$$

$$5 \text{ mg} / 100 = 0,05 \text{ mg} = 50 \text{ } \mu\text{g, } RfD (TDI) \text{ van BPA} = 50 \text{ } \mu\text{g/kg lichaamsgewicht/dag}$$

Wanneer de NOAEL niet bekend is, wordt de LOAEL geëxtrapoleerd naar een NOAEL en hieruit wordt de TDI berekend. Voor deze extrapolatie wordt een bijkomende UF van 10 genomen (28, 29).

De huidige NOAEL van 5 mg BPA/kg lichaamsgewicht/dag die al sinds de jaren tachtig van de 20^e eeuw wordt gehanteerd, is nog eens bevestigd in dierexperimentele onderzoeken door Tyl et al. (2002 en 2008) bij ratten en muizen. Meerdere generaties proefdieren zijn blootgesteld aan verschillende doses BPA die oraal (in het dieet) werden toegediend. Bij doses tot en met 5 mg BPA/kg lichaamsgewicht/dag zijn geen schadelijke effecten waargenomen. Bij doses van 50, 500 en 600 mg BPA/kg lichaamsgewicht/dag is wel een systemische toxiciteit van BPA waargenomen (30, 31).

Bij drie generaties ratten zijn bij 50 en 500 mg BPA/kg lichaamsgewicht/dag de volgende effecten waargenomen: vermindering van het gewicht van de hersenen, hypofyse, nieren, bijnieren, lever en milt, vermindering van het lichaamsgewicht en van de toename van het lichaamsgewicht bij de groei en ontwikkeling. Deze effecten zijn zowel bij volwassen proefdieren als bij pups waargenomen. Bij vrouwelijke proefdieren zijn bij 500 mg BPA/kg lichaamsgewicht/dag ook pathologische weefsels in de lever en in de nieren gevonden. Daarnaast daalde het gewicht van de ovaria. Tevens zijn er per zwangerschap minder pups geboren en er werden per zwangerschap minder levende pups geboren (31).

Vergelijkbare experimenten zijn uitgevoerd bij twee generaties muizen. Bij 50 mg BPA/kg lichaamsgewicht/dag is hypertrofie van hepatocyten waargenomen. Bij 500 mg BPA/kg lichaamsgewicht/dag is het gewicht van de nieren en van de lever gedaald en zijn er hypertrofische hepatocyten gevonden. Ook het lichaamsgewicht is gedaald. Bij mannelijke proefdieren is er tevens nefropathie waargenomen. Bij deze BPA-concentratie zijn bij de geboren pups een verkleinde milt en een gedaald lichaamsgewicht vastgesteld. Ook is het gewicht van de testes gedaald en de indaling van de testes vertraagd (30).

Uit deze studies is geconcludeerd dat de NOAEL van BPA 5 mg/kg lichaamsgewicht/dag is, dat er bij doses BPA <5mg/kg lichaamsgewicht/dag geen low-dose-effecten zijn en dat er geen evidence is voor NMDR-eigenschappen. Op basis van deze NOAEL is de TDI van 50 µg/kg lichaamsgewicht/dag berekend (30, 31).

Low-dose-discussie

Er bestaat veel controverse over de NOAEL en TDI die hierboven zijn beschreven. In de laatste jaren zijn er namelijk vele in-vivo- en in-vitro-studies gepubliceerd die aan BPA wel degelijk low-dose-effecten en NMDR-eigenschappen toeschrijven.

Vom Saal en Hughes (2005) beschrijven dat doses BPA beneden de LOAEL van 50mg BPA/kg lichaamsgewicht/dag bij diverse soorten proefdieren schadelijke effecten kunnen hebben zoals veranderingen in het mannelijke en vrouwelijke voortplantingsstelsel, in gedrag, van enzym activiteit, in het immuunsysteem, van chemische processen in de hersenen en veranderingen van hersenstructuren (32). Ook tonen in-vitro-studies aan dat BPA-concentraties in pico- tot nano-molair-ranges al veranderingen in dierlijke en humane cellen kunnen veroorzaken (33). Aangezien BPA in deze low-dose-ranges ook in het bloed van mensen voorkomt is de biologische activiteit van BPA in het menselijk bloed groter dan tot nu toe veelal wordt aangenomen. De mens wordt blootgesteld aan doses BPA die schadelijke effecten hebben bij proefdieren. Er wordt dan ook gepleit voor een nieuwe risicoanalyse door de regelgevende organisaties als FDA (U.S. Food and Drug Administration) en U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency) om een nieuwe TDI vast te stellen (32-34).

De onderzoeken die geen low-dose-effecten aantonen krijgen van diverse auteurs op verschillende punten kritiek (22, 34, 35):

- Risicoanalyses van schadelijke effecten van BPA zijn te veel gebaseerd op oude studies die geen low-dose-effecten aantonen en negeren te veel recenter onderzoek dat wel low-dose-effecten aantoont.
- De meeste onderzoeken die geen low-dose-effecten hebben aangetoond, zijn gefinancierd door de chemische industrie. De meeste door de overheid gefinancierde onderzoeken tonen echter wel low-dose-effecten aan.
- Vaak worden studies die niet zijn uitgevoerd volgens bepaalde gestandaardiseerde richtlijnen, zoals GLP (Good Laboratory Practice) en OECD-Test-Guidelines, buiten beschouwing gelaten, terwijl juist deze studies vaak low-dose-effecten aantonen. Hierdoor worden zeer veel van deze studies geëxcludeerd bij risicoanalyses.
- Een groot aantal studies is uitgevoerd met gebruik van een ratten-ras dat niet geschikt is voor de studies naar oestrogene effecten van chemicaliën als BPA.
- De mogelijke NMDR-eigenschappen van BPA worden te weinig onderzocht.
- De humane absorptie, metabolisme en excretie van BPA verschillen te veel van die van proefdieren om op basis van proefdieronderzoek eenduidige conclusies te kunnen trekken over de gevolgen van blootstelling van de mens aan BPA.

Op de onderzoeken die wel low-dose-effecten aantonen is ook kritiek (9, 36, 37):

- De studies zijn vaak niet volgens gestandaardiseerde richtlijnen als de GLP en OECD-Test-Guidelines uitgevoerd.
- Bij de onderzoeken zijn vaak kleine groepen proefdieren gebruikt.
- Veel onderzoeken die low-dose-effecten aantonen hebben BPA subcutaan toegediend in plaats van oraal, dit is niet representatief voor de humane blootstelling aan BPA (voornamelijk oraal).
- De humane absorptie, metabolisme en excretie van BPA verschillen te veel van die van proefdieren om op basis van proefdieronderzoek eenduidige conclusies te kunnen trekken over de gevolgen van blootstelling van de mens aan BPA.
- Het verschil tussen in-vivo en in-vitro studies is te groot om uit in-vitro studies conclusies te kunnen trekken.
- De onderzoeken worden met te weinig verschillende doses BPA uitgevoerd.
- Het dieet en de leefomgeving van de proefdieren kan een bron van BPA zijn en daardoor zorgen voor bias in het onderzoek.

De regelgevende organisaties zoals de WHO (World Health Organization) en de FDA handhaven tot nu toe de NOAEL van 5 mg/kg lichaamsgewicht/dag, de LOAEL van 50mg BPA/kg lichaamsgewicht/dag en de hiervan afgeleide TDI van 50 µg BPA/kg lichaamsgewicht/dag (27, 38, 39).

De WHO (2009) handhaaft de huidige NOAEL, maar geeft wel aan dat er een aantal onzekerheden aan te wijzen zijn in de in risicoanalyse van BPA (27):

- Er zijn studies die aantonen dat BPA bij doses beneden de NOAEL effect heeft op het gedrag van proefdieren na blootstelling tijdens de ontwikkelingsperiode.
- Er bestaan grote verschillen tussen mensen en proefdieren in absorptie, metabolisme en excretie van BPA en daarom moet voorzichtigheid betracht worden in het extrapoleren van resultaten uit proefdieronderzoek naar mensen.
- Hoewel er carcinogene eigenschappen aan BPA worden toegeschreven, bestaat hiervoor nog geen overtuigend bewijs.

Ook de French Food Safety Agency (FFSA) handhaaft de huidige TDI. De FFSA pleit wel voor een breed, internationaal onderzoek door overheden en academici naar low-dose-effecten

van BPA. De EFSA ziet de resultaten uit de low-dose-onderzoeken, ondanks de tekortkomingen van deze studies, namelijk als waarschuwingssignalen (37).

De EFSA (European Food Safety Authority) daarentegen heeft in 2015 de TDI verlaagd van 50µg BPA/kg lichaamsgewicht/dag naar 4µg BPA/kg lichaamsgewicht/dag. De EFSA heeft deze nieuwe TDI berekend door in de berekening een andere UF's te gebruiken. Dit heeft te maken met onzekerheden over de potentiële effecten van BPA op het gedrag, het immuunsysteem, het metabolisme, het reproductieve systeem en op de borstklieren. Volgens de EFSA blijft de huidige blootstelling aan BPA drie tot vijf keer lager dan deze nieuwe TDI, ook bij risicogroepen als baby's, kinderen en adolescenten. De EFSA vermeldt hierbij wel dat er nog onzekerheid is over de huidige blootstelling aan BPA uit niet-voedsel-bronnen (40, 41).

3.2.2.3 De schadelijke effecten van bisfenol-A op de gezondheid van de mens

Zoals reeds is beschreven hebben Tyl et al. (2002, 2008) de resultaten van blootstelling van proefdieren aan hoge doses BPA onderzocht. Het onderzoek naar de potentiële schadelijke effecten van BPA spitst zich echter voornamelijk toe op de doses die relevant zijn voor de dagelijkse blootstelling van de mens, de zogenaamde low-dose-effecten. 'Low-dose' wordt gedefinieerd als doses <50 µg BPA/kg lichaamsgewicht/dag. De dagelijkse blootstelling van de mens aan BPA wordt geschat op <1 µg BPA/kg lichaamsgewicht/dag (4, 30-32).

Epidemiologisch onderzoek

Het onderzoek naar de schadelijke effecten van BPA op de gezondheid van de mens is bijna volledig beperkt tot in-vitro- en in-vivo-onderzoek bij proefdieren. Er zijn slechts enkele epidemiologische onderzoeken naar de mens beschikbaar. In deze studies is er gezocht naar een mogelijk verband tussen de BPA-concentratie in urine en/of bloed en diverse pathologieën (11, 42).

Op basis van BPA-urineconcentraties is er volgens Braun en Hauser (2011) een mogelijk verband tussen blootstelling aan BPA en vertraagde borstontwikkeling bij meisjes. Tevens worden er bij hogere BPA-urineconcentraties verhoogde sekshormoonconcentraties (FSH, LH, SHBG, estradiol en testosteron) gevonden, wat wijst op een potentieel verband tussen BPA-blootstelling en de reproductieve gezondheid. Braun en Hauser (2011) merken hierbij

echter wel op dat het belang van het meten van de BPA-urineconcentraties beperkt is omdat BPA een korte halfwaardetijd heeft en omdat de BPA-urineconcentraties sterk kunnen variëren in de tijd. Daardoor zijn actuele BPA-urineconcentraties geen accurate weergave van vroegere en chronische blootstelling aan BPA (42).

Andere auteurs vonden een verband tussen verhoogde BPA-bloedconcentraties en cardiovasculaire ziekten, leverdisfunctie, diabetes en obesitas (11).

Bisfenol-A en obesitas

Proefdieronderzoek toont aan dat een dagelijkse blootstelling van de foetus en het neonat aan relevante doses BPA zorgt voor een verhoogde insuline-secretie, glucosegevoeligheid en een versnelde postnatale groei. Dit wijst op een mogelijk verband tussen BPA-blootstelling tijdens de vroege ontwikkeling en het ontstaan van obesitas later in het leven (43).

In-vitro-onderzoek toont vergelijkbare effecten van BPA. Thayer, Heindel, Bucher en Gallo (2012) hebben ook een invloed van BPA op insuline-secretie, glucose-homeostase en adipogenese gevonden, maar volgens hen zijn de data te beperkt om een link te kunnen leggen tussen BPA en diabetes/obesitas (44).

Bisfenol-A en kanker

Hoewel volgens een review van Haighton et al. (2002) BPA niet carcinogeen, noch cytotoxisch of genotoxisch is, zijn er tal van onderzoeken die aan lage, relevante doses BPA wel degelijk carcinogene eigenschappen toeschrijven (45).

Volgens Keri et al. (2007) is het, op basis van onderzoek naar lage doses BPA bij ratten en muizen, waarschijnlijk dat BPA is geassocieerd met de toename van tumoren in het hematopoëtisch systeem en in de testes (13).

Volgens een groot aantal auteurs blijkt uit in-vitro en proefdieronderzoek dat prenatale- en perinatale-blootstelling en blootstelling tijdens het vroege leven aan lage, relevante doses BPA zorgt voor een vergroot risico op het ontwikkelen van borstkanker op latere leeftijd (13, 46-49). Enkele auteurs rapporteren vergelijkbare bevindingen met betrekking tot prostaatcancer (13, 46, 50).

Bisfenol-A en thyroïdfunctie

Proefdieronderzoek toont aan dat lage doses BPA in staat zijn om de werking van het thyroïd te beïnvloeden. Aangezien thyroïdhormonen tal van functies reguleren zoals het metabolisme, de hartfunctie en botremodeling, maar ook invloed hebben op de mentale status, is in verband met de grote hoeveelheden BPA die geproduceerd worden meer onderzoek nodig naar de invloed van BPA op de werking van het thyroïd bij de mens (12, 51).

Bisfenol-A en neurologische ontwikkeling en gedrag

Op basis van proefdieronderzoek concluderen sommige auteurs dat blootstelling van de foetus en het jonge kind aan lage, relevante doses BPA mogelijk invloed heeft op de neuronale ontwikkeling en op het gedrag van het kind in het latere leven (11, 50). Volgens ander onderzoek is er echter geen evidence voor dit verband (52).

Bisfenol-A en genetica

Blootstelling van de foetus en het pasgeboren kind aan lage, relevante doses BPA heeft invloed op de epigenetica en genexpressie. Dit is op basis van verschillende onderzoeken bij proefdieren geconcludeerd (46, 50, 53).

Wat hiervan precies de fenotypische uitkomst is bij de mens moet nog verder onderzocht worden (50, 53).

Bisfenol-A en seksuele ontwikkeling

Epidemiologisch onderzoek bij de mens veronderstelt een potentiële relatie tussen blootstelling aan lage doses BPA en de reproductieve gezondheid in verband met verhoogde hormoonconcentraties (LH, FSH, SHBG, testosteron, estradiol) bij verhoogde BPA-urineconcentraties (42). Mogelijk is er ook een verband tussen blootstelling aan BPA en vertraagde borstontwikkeling (42).

Uit proefdieronderzoek blijkt dat blootstelling aan lage doses BPA tijdens de foetale en perinatale periode een effect heeft op de ontwikkeling en functie van de vrouwelijke geslachtsorganen. Blootstelling tijdens de kinderjaren heeft geen ernstige gevolgen (47). Diverse auteurs rapporteren een invloed van een dergelijke blootstelling op de seksuele ontwikkeling en reproductieve gezondheid van vrouwen én mannen (11, 46).

Risicogroepen

Zwangere vrouwen, foetussen, baby's en kinderen lopen het meeste risico bij blootstelling aan BPA. Hoewel evidence voor de gezondheidseffecten van blootstelling aan lage doses BPA vaak nog ontbreekt en er geen duidelijkheid is over welke doses BPA als veilig kunnen worden beschouwd, moet blootstelling van deze risicogroepen aan BPA zo veel mogelijk vermeden worden (11, 42).

3.2.3 Bisfenol-A in tandheelkundige materialen

3.2.3.1 Bisfenol-A-bevattende tandheelkundige materialen

BPA komt in de tandheelkunde voor in composiet, put-en-fissuur-sealings, adhesieven, kunstharscementen, prothese-kunsthars en polycarbonaat-materialen. Deze materialen bevatten kunstharsen die onder andere uit BPA zijn samengesteld (BPA-derivaten), of BPA komt als een onzuiverheid in het productieproces voor in het materiaal (14, 18, 54-58).

Composiet-vullingsmateriaal

Een composietmateriaal is een materiaal dat uit twee of meer bestanddelen bestaat. Deze bestanddelen zijn in het composietmateriaal als onderscheiden entiteiten (multifase-materiaal) aanwezig, behouden hun eigen structuur en geven bepaalde eigenschappen aan het composietmateriaal. In composietmaterialen worden verschillende bestanddelen met hun specifieke eigenschappen gecombineerd tot een nieuw materiaal, met een eigen structuur en eigenschappen. Deze eigenschappen van het composietmateriaal worden beïnvloed door de specifieke eigenschappen van de samenstellende bestanddelen. Er wordt geprobeerd het composietmateriaal te laten profiteren van de gunstige materiaaleigenschappen van de samenstellende bestanddelen (54-56, 59).

In tandheelkundige composiet-vullings-materialen wordt het composiet materiaal gevormd door een matrix fase, een vulstof fase en een koppelingsfase.

De matrixfase wordt gevormd door organische kunstharsen. De meest gebruikte kunstharsen zijn bisphenol-A-glycidyl-di-methacrylaat (BisGMA) en urethaan-di-methacrylaat (UDMA). Deze monomeren met een hoog moleculair gewicht hebben methacrylaatuiteinden die dubbele bindingen (C=C) bevatten die beschikbaar zijn voor polymerisatie. Aangezien Bis-

GMA en UDMA zeer viskeus zijn, worden om de viscositeit te verlagen en dus de verwerkingseigenschappen te verbeteren, laag viskeuze di-methacrylaatmonomeren met een laag moleculair gewicht als tri-ethyleen-glycol-di-methacrylaat (TEGDMA), ethyleenglycol-dimethacrylaat (EGDMA), geëthoxyleerd-bis-GMA (Bis-EMA), ethyleen-dimethacrylate (EDMA) en methyl-methacrylaat (MMA) toegevoegd. Deze monomeren kunnen polymeriseren tot een 3D-polymeer-netwerk door vrije-radicaal-geïnitieerde-additie-polymerisatie. De C=C-bindingen aan de uiteinden van de methacrylaatgroepen zijn beschikbaar voor deze reactie. Bij deze polymerisatiereactie gaat het composiet over van een laag-viskeuze, 'vloeibare'-fase over naar een vaste, harde fase. Het 3D-netwerk vormt de matrixfase van tandheelkundige composieten. Dit netwerk houdt de vulstoffase bijeen, vangt inwerkende krachten op en verdeelt deze. De matrixfase bepaalt eigenschappen van het composiet als taaiheid, duurzaamheid en de thermo-mechanische eigenschappen (54-56, 59).

De vulstoffase van tandheelkundig composiet bestaat uit anorganische minerale partikels. Dit kunnen silica-, glas- (onder andere bariumglas en zirconiumglas) en kermamiek-partikels (onder andere alumina en zirconia) zijn. De vulstoffase beïnvloedt eigenschappen als buigsterkte, polymerisatiekrimp, kleur, fluorescentie, polijstbaarheid, radio-opaciteit, thermische-expansie en abrasieweerstand. Factoren als type vulstof, concentratie van de vulstof en partikelgrootte zijn van belang voor de eigenschappen van het composiet. De vulstofconcentratie kan gegeven worden in volume- of gewichtsprocenten. Deze concentratie ligt tussen de 50 en 90 gewichtsprocent. De koppelingsfase zorgt ervoor dat de vulstofdeeltjes aan de matrix worden gekoppeld. Silaan wordt gebruikt als koppelingsmolecule (54-56).

Tandheelkundige composieten bevatten een initiator-activator-systeem om het polymerisatieproces te kunnen starten. Deze kunnen een diketon of amine bevatten. Bij lichtuithardende composieten wordt de polymerisatie geactiveerd door beschijning met blauw licht (465-470nm golflengte). Vaak wordt bij deze composieten het diketon kamferchinone gebruikt als initiator. Bij chemisch-uithardende composieten start de polymerisatie door het vermengen van een initiator en activator. Bij deze composieten worden vaak peroxiden (onder andere benzoylperoxide) en aminen gebruikt als activator. Het initiator-activator-systeem zorgt dat er een vrij radicaal beschikbaar komt om de polymerisatiereactie te kunnen starten. Tandheelkundige composieten bevatten ook inhibitoren om een vroegtijdige polymerisatie te voorkomen en de houdbaarheid en de verwerkingstijd van het composiet te verlengen. Tevens

worden aan tandheelkundige composieten pigmenten toegevoegd om de kleur en de fluorescentie te bepalen (54-56, 59).

Tandheelkundige composieten kunnen op verschillende manieren worden ingedeeld: op basis van de vulstof (vulstofgrootte en/of vulstofverdeling) en op basis van de verwerkingseigenschappen (consistentie en polymerisatietechniek).

De klassieke indeling volgens Willems (Willems, Lambrechts, Braem, Celis en Vanherle, 1992) is een indeling op basis van vulstofgrootte en vulstofverdeling. Deze indeling maakt onderscheid tussen conventionele, micro-fijne en hybride composieten.

De conventionele composieten bevatten macro-vulstoffen met een partikelgrootte van 1-50µm diameter, met doorgaans een vulstoffractie (=hoeveelheid vulstof) tussen de 60 en 80 gewichtsprocent.

De micro-fijne composieten bevatten sub-micron-vulstoffen met een diameter tussen 0,01 en 0,1µm, welke een vulstofgraad tussen de 30 en 60 gewichtsprocent hebben. Deze vulstoffen kunnen homogene sub-micron-vulstoffen zijn, de zogenaamde microfijne homogene composieten. Maar de vulstoffen kunnen ook bestaan uit heterogene vulstoffen, vulstoffen die bestaan uit microfijne prepolymerisate of agglomeraten. Dit zijn de microfijne heterogene composieten.

Hybride composieten bevatten een combinatie van conventionele- en sub-micron- vulstoffen. Deze kunnen worden onderverdeeld in halfgevulde (50-60 vol%) en compact-gevulde composieten (60-70 vol%) (60).

Aangezien er de laatste jaren grote ontwikkelingen zijn geweest in de tandheelkundige composieten is deze indeling niet meer volledig. Tegenwoordig bestaan er ook vezel-versterkte composieten en composieten met nano-deeltjes 0,005-0,1µm. Ook kunnen de huidige compact-gevulde composieten een vulstofgraad tot 90 gewichtsprocent hebben.(54, 55, 60)

De indeling volgens consistentie maakt onderscheid tussen de flowable-, spuitbare- en packable-composieten. De flowable-composieten worden gekenmerkt door een lage viscositeit en de packable-composieten door een hoge viscositeit. De viscositeit van de spuitbare composieten ligt tussen die van de flowable- en packable-composieten in (55, 56).

De indeling volgens polymerisatie-techniek kent een onderscheid tussen de self-curing-, licht-uithardende- en dual-curing-composieten. De self-curing composieten harden uit door een verhardingsreactie na het vermengen van een initiator en activator. Bij de licht-uithardende-composieten is voor de verharding van het materiaal beschijning door een speciale lichtbron nodig om het initiator-activator-systeem in werking te zetten. De dual-curing-composieten kunnen uitharden door self-curing en licht-uitharding (54-56).

Met betrekking tot de polymerisatie zijn een aantal zaken van belang: de zuurstof-geïnhibeerde laag, polymerisatiekrimp en polymerisatiegraad.

De *zuurstof-geïnhibeerde laag* is een niet gepolymeriseerde laag aan het oppervlak van het composiet met een dikte van 10-50µm. Deze laag ontstaat doordat de polymerisatie-reactie niet plaatsvindt wanneer de monomeren in contact zijn met zuurstof. Deze laag zorgt voor de beschikbaarheid van niet gereageerde C=C bindingen zodat er nieuwe laag composiet op aangebracht kan worden. Omdat deze laag niet is uitgehard, is deze extra gevoelig voor slijtage van het oppervlak (54, 55).

Bij het polymeriseren van de monomeren tot een polymeer-3D-netwerk vindt er volumetrische krimp van het composietmateriaal plaats doordat de niet-gereageerde monomeren meer plaats innemen dan de polymeren. Deze krimp wordt de *polymerisatiekrimp* genoemd. Aangezien composiet aan tandmateriaal gekleefd wordt, ontstaan door de volumetrische krimp krimpspanningen in het materiaal. Deze spanningen kunnen onder andere zorgen voor verlies van hechting aan het tandmateriaal (vorming van randspleten), breuk in het composietmateriaal en deformatie van de tand waardoor verhoogde gevoeligheid en eventueel zelfs cracks en breuken in de tand kunnen ontstaan. Monomeren met een hoog moleculair gewicht zorgen voor een lagere polymerisatiekrimp van het composietmateriaal dan monomeren met een laag moleculair gewicht (54-56).

De *polymerisatiegraad* van tandheelkundige composieten geeft het percentage C=C-bindingen aan van het materiaal dat heeft gereageerd tot C-C-bindingen. Dit is een maat voor de hoeveelheid monomeren die na polymerisatie is betrokken in het polymeernetwerk. Bij het uitharden of polymeriseren van het composiet gaan niet alle monomeren over tot een polymeernetwerk. Er blijven altijd niet-gereageerde monomeren in het materiaal aanwezig. Over het algemeen wordt bij directe composietrestauraties een polymerisatiegraad van 50-

70% bereikt. Deze onvolledige polymerisatie kan zorgen voor slechte mechanische eigenschappen, retentieverlies of een slechte randaansluiting. Ook kan er microlekkage en degradatie van het composiet optreden en kunnen de niet-gereageerde monomeren uit het composiet lekken. Idealiter moet een zo hoog mogelijke polymerisatiegraad nagestreefd worden om een optimale restauratie te verkrijgen. Zo zorgt een hogere polymerisatiegraad onder andere voor een grotere breuktaaiheid. Deze polymerisatiegraad kan door zeer veel factoren worden beïnvloed (54-56, 61-63).

Bisfenol-A in ander tandheelkundige materialen

Andere tandheelkundige materialen zoals sealings, adhesief-systemen, kunstharscementen en prothesekunsthars die kunstharsen als bestanddeel hebben, kunnen ook BPA bevatten. Deze materialen hebben vaak een gelijkaardige samenstelling als tandheelkundige composieten. Ze bevatten in ieder geval monomeren.(54-56)

Put-en-fissuur-sealings bevatten ook dimethacrylaten als Bis-GMA en UDMA. Sealings kunnen onge vuld of licht gevuld zijn. De vulstoffractie is laag om een lage viscositeit te kunnen handhaven. Ook bevatten sealings een initiator-activator systeem om de polymerisatiereactie te starten. De meeste sealingsmaterialen zijn licht-uithardend. Er zijn verschillende soorten adhesief-systemen. Het systeem bevat vaak hydrofiele monomeren als HEMA, 10-MDP, 4-META, NTG-GM. Verder bevat het hydrofobe monomeren als Bis-GMA en UDMA. De adhesief-systemen bevatten ook een initiator-activator-systeem en soms ook vulstof (silica) (54-56).

3.2.3.2 De vrijstelling van bisfenol-A uit tandheelkundige materialen

Lekkage van monomeren

BPA komt voor in Bis-GMA en in kunstharsen op basis van Bis-GMA. Bijgevolg komt BPA ook voor in tandheelkundige materialen op basis van Bis-GMA. Tandheelkundige composieten die gebaseerd zijn op Bis-GMA bevatten dus ook BPA. Composieten die gebaseerd zijn op andere monomeren bevatten eveneens vaak kleine hoeveelheden Bis-GMA en daardoor ook zeer kleine hoeveelheden BPA (57, 64).

Wanneer de gepolymeriseerde tandheelkundige kunstharsmaterialen in contact zijn met een vochtig milieu, zoals water of speeksel, kunnen er monomeren uit het materiaal lekken. De

vrijstelling van monomeren uit tandheelkundige kunstharsmaterialen in water, speeksel en andere oplossingen is vooral bij tandheelkundige composieten en sealings onderzocht. In-vitro onderzoek toont aan dat onder andere Bis-GMA-, TEGDMA- en UDMA-monomeren uit composieten en sealings kunnen lekken. Ook BPA-monomeren kunnen uit deze materialen worden vrijgesteld (14).

Mechanismen van lekkage

De vrijstelling van monomeren, en dus van BPA, uit kunstharsmaterialen in speeksel gebeurt door diffusie en hydrolyse.

De samenstellende monomeren van de kunstharsmaterialen worden na plaatsing gepolymeriseerd tot een 3D-netwerk (matrix). De conversiegraad is nooit 100% en bijgevolg zijn er in het materiaal altijd niet-gereageerde monomeren aanwezig. Het polymeernetwerk is quasi onoplosbaar, maar afhankelijk van het solvent kunnen de aanwezige restmonomeren wel oplosbaar zijn. In oplossing penetreert het solvent door diffusie in het polymeernetwerk en zorgt het voor een expansie van de ruimte tussen de polymeerketens. Wanneer de niet-gereageerde monomeren oplosbaar zijn in het solvent, kunnen ze door de ontstane ruimte uit het polymeernetwerk in het solvent diffunderen. De diffusie van de monomeren uit het polymeernetwerk is afhankelijk van de grootte en van de chemische eigenschappen (oplosbaarheid) van de lekkende monomeren (14, 65, 66).

Monomeren kunnen ook uit kunstharsmaterialen in speeksel lekken door hydrolyse. Bepaalde enzymen (hydrolazen) en proteïnen die in het speeksel aanwezig zijn kunnen interageren met het oppervlak van het materiaal. Door hydrolyse van de polymeren kunnen er monomeren vrij komen. Hierdoor vindt er verzachting van het oppervlak, slijtage en degradatie van het kunstharsmateriaal plaats (25, 67-69). De hydrolyse vindt onder andere plaats ter hoogte van de ester-bindingen in het polymeernetwerk (67, 69).

BPA kan in de kunstharsmaterialen voorkomen als derivaat in onder andere Bis-GMA en Bis-DMA en als onzuiverheid van het productieproces (18). Door diffusie en hydrolyse kunnen monomeren, zoals BPA, uit de kunstharsmaterialen worden vrijgesteld (65, 69). BPA kan ook vrijkomen doordat BPA-derivaten zoals Bis-GMA en Bis-DMA worden gehydrolyseerd tot onder ander BPA (25, 62, 70).

Diverse auteurs hebben bij in-vitro-lekkage-studies geen BPA gevonden (71, 72). In deze studies is water als solvent gebruikt. BPA is echter slechts beperkt oplosbaar in water. In organische solventen zoals speeksel is BPA beter oplosbaar. Er zijn ook geen hydrolytische enzymen aanwezig in het water, waardoor er geen hydrolyse van de polymeren plaatsvindt. Deze enzymen zijn wel aanwezig in speeksel. De in-vitro-studies waarbij organische solventen of speeksel is gebruikt tonen wel lekkage van BPA aan. Er vindt dus wel degelijk lekkage van BPA in speeksel plaats (14, 25, 73).

Factoren die de hoeveelheid lekkage beïnvloeden

Uit in-vitro onderzoek blijkt dat de hoeveelheid en de snelheid van de lekkage van monomeren afneemt bij een stijgende conversiegraad van het kunstharsmateriaal. Aangezien de conversiegraad een maat is voor de hoeveelheid vrije monomeer, zijn er bij een hogere conversiegraad meer monomeren betrokken in het polymeernetwerk en zijn er minder monomeren beschikbaar voor lekkage (63, 65, 71, 73).

Voor lichtuithardende composieten geldt dat een langere belichtingstijd de conversiegraad vergroot, waardoor er minder lekkage van monomeren optreedt (65, 74-76). Een langere polymerisatietijd kan de lekkage van monomeren niet volledig voorkomen (63).

De zuurstofgeïnhibeerde laag aan het oppervlak van de kunstharsmaterialen bevat residuele monomeren die in de omgeving kunnen worden vrijgesteld. De lekkage van monomeren kan beperkt worden door deze zuurstofgeïnhibeerde laag te verwijderen door deze weg te wrijven met wattenrollen, rubbercup of een rubbercup met profylaxepasta. Bij in-vitro onderzoek bleken de wattenrollen het meest effectief om de lekkage van monomeren te beperken (77).

De absolute hoeveelheid lekkage

De hoeveelheid BPA die uit tandheelkundige composieten of sealings kan lekken is het grootst in de eerste uren na plaatsing. De lekkagesnelheid neemt snel af in de tijd, maar er blijven lange tijd (tot 28 dagen na de plaatsing) kleine hoeveelheden BPA uit de kunstharsmaterialen lekken (72, 78). Eén auteur heeft uit langdurig in-vitro-onderzoek geconcludeerd dat de lekkage van BPA uit tandheelkundige composieten na 90 tot 180 dagen immersie groter is dan in de eerste 90 dagen (79).

Van Landuyt et al. (2011) hebben in een meta-analyse van in-vitro-onderzoek onderzocht hoeveel monomeren en hoeveel BPA worden vrijgesteld uit tandheelkundige

kunstharsmaterialen. Deze meta-analyse wijst uit dat er uit tandheelkundige kunstharsmaterialen vooral HEMA, TEGDMA, UDMA en Bis-GMA lekt. BPA lekt in vergelijkbare of kleinere hoeveelheden uit deze materialen (14).

Van Landuyt et al. (2011) hebben in de meta-analyse berekend dat een volledige kroonopbouw van een molaar in de eerste 24 uur tot maximaal 132,36 μ mol BPA kan vrijstellen in een organisch solvent. Er werd een gemiddelde berekend van 57,38nmol BPA na 24 uur uit een volledige kroonopbouw van een molaar. Op basis van de TDI van BPA (0,05mg/kg lichaamsgewicht/dag = 220nmol/kg lichaamsgewicht/dag) en een dagelijkse blootstelling aan BPA uit voedsel van 10 μ g/kg voedsel (43,8nmol/kg voedsel), hebben de auteurs geconcludeerd dat tandheelkundige materialen een relevante bijdrage kunnen leveren aan de BPA-blootstelling van de mens. Dit geldt vooral voor grote of meerdere restauraties (14).

De meta-analyse van Van Landuyt et al. (2011) heeft echter zijn beperkingen. De in-vitro-studies zijn zeer verschillend in methodologie en onderzoeksopzet. Sommige onderzoeken zijn enkel kwalitatief. De kwantitatieve onderzoeken hebben BPA in verschillende eenheden gemeten. Deze studies zijn methodologisch vaak zwak doordat ze de detectie- en/of kwantificatiegrenzen niet vermelden (14).

Het in-vitro onderzoek is ook niet altijd een adequate weergave van de orale situatie. De eigenschappen van de gebruikte solventen verschillen vaak van de eigenschappen van speeksel. Tevens vindt er in de mond een continue verversing van speeksel plaats, terwijl bij de meeste in-vitro-onderzoeken het solvent niet is ververst. In-vitro stopt de lekkage wanneer er een evenwicht is bereikt tussen de hoeveelheid monomeren in het kunstharsmateriaal en in het solvent. Bij in-vivo gaat de lekkage altijd door omdat door de continue verversing van het speeksel nooit een evenwicht wordt bereikt. Bij in-vivo is de lekkage dus groter dan bij in-vitro (14).

Samenvatting Paragraaf 3.2

- De mens komt op tal van manieren in contact met BPA, de dagelijkse blootstelling wordt geschat op $<1\mu\text{g/kg}$ lichaamsgewicht/dag.
- BPA is een endocrine disrupting chemical (EDC) met xeno-oestrogene eigenschappen.
- De huidige TDI van BPA is $50\mu\text{g BPA/kg}$ lichaamsgewicht/dag.
- Er zijn aanwijzingen dat BPA low-dose-eigenschappen heeft en dus schadelijke effecten heeft bij langdurige blootstelling aan lage doses BPA (beneden de huidige TDI). Het is echter nog niet duidelijk welke doses BPA dan wel veilig zijn.
- De EFSA heeft in verband met de low-dose-discussie rondom BPA de TDI verlaagd naar $4\mu\text{g BPA/kg}$ lichaamsgewicht/dag.
- Tandheelkundige composietmaterialen als vulcomposieten, sealings, adhesief-systemen, kunstharscementen en prothesekunstharsen kunnen BPA bevatten.
- Door diffusie en hydrolyse kunnen BPA-monomeren uit de kunstharsmaterialen in het speeksel lekken.
- De conversiegraad en de zuurstofgeïnhibeerdelaag zijn van invloed op de hoeveelheid BPA die uit de kunstharsmaterialen kan lekken. Een hogere conversiegraad en het verwijderen van de zuurstofgeïnhibeerde laag zorgen voor minder BPA-lekkage.
- Uit in-vitro-onderzoek blijkt dat de BPA-lekkage uit tandheelkundige materialen een relevante bijdrage levert aan de BPA-blootstelling van de mens. Direct na plaatsen lekt het meeste BPA, hoe lang de lekkage van BPA doorgaat is nog onduidelijk.

3.3 Klinische bisfenol-A-lekkage-studies bij de mens

Er zijn diverse in-vivo-studies naar de lekkage van BPA uit tandheelkundige materialen zoals composiet en pit-en-fissuur-sealings uitgevoerd. In deze studies is de BPA-concentratie in speeksel voor en na restauratie bepaald. Deze BPA-concentraties in speeksel zijn een maat voor de hoeveelheid BPA die vrijgesteld wordt uit de restauraties. In **Tabel 6** is een overzicht van deze studies weergegeven met daarbij de belangrijkste kenmerken en bevindingen. Volgend op het overzicht wordt elke studie apart besproken.

Tabel 6: Klinische BPA-lekkagestudies

Titel	Auteur	Tijdschrift, jaar van publicatie	Patiënten populatie (geslacht, leeftijd)	Aantal patiënten	Groepen (aantal personen)	Follow up	Kunstharsmateriaal Hoeveelheid per persoon	Substraat	Methode van analyse	Units BPA	[BPA] in speeksel (gemiddeld of maximaal)	Type studie
<i>Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry(80)</i>	Olea et al.	Environmental Health Perspectives 1996	m/v 18-25j gem 20j	18		baseline 1u post	sealings 50mg	speeksel	HPLC MS	ug/ml	max: 30 gem: 9,73	C
<i>Time-related bisphenol-A content and estrogenic activity in saliva samples collected in relation to placement of fissure sealants(81)</i>	Arenholt-Bindslev, Breinholt, Preiss en Schmalz	Clinical Oral Investigations 1999	m 20-23j	8	A: Delton LC (4) B: Visio seal (4)	baseline 1u post 24 post	sealings 38±3mg	speeksel	HLPC	ppm	BL: A: ≤0,1 B: ≤0,1 max, 1u: A: 2,8 B: ≤0,1 gem: A: 1,43 B: ≤0,1	C
<i>Pharmacokinetics of bisphenol A released from a dental sealant(82)</i>	Fung et al.	Journal of American Dental Association 2000	m/v 20-55j	40	A: 8mg (18) B: 32mg (22)	baseline 1u post 3u post 24u post 3d post 5d post	sealings 8 mg of 32mg	speeksel bloed	HLPC	ppb	max, 1-3u: A: 105,6 B: 105,6	C
<i>Salivary bisphenol-A levels detected by Elisa after restoration with composite resin(83)</i>	Sasaki et al.	Journal of Materials Science: Materials in Medicine 2005		21	1: Bis-GMA 2: UDMA	baseline direct post(A) na mond spoelen (B)	compositiet 0,1g	speeksel	ELISA	ng/ml	max A: 1: 100 2: 40 max B: 1: 18 2: 5	C

<i>Exposure to bisphenol A from bis-glycidyl-dimethacrylate-based dental sealants(84)</i>	Joskow et al.	Journal of American Dental Association 2006	m/v 19-42j	14	A: Helioseal F B: Delton LC	baseline, direct post 1u post	sealings	speeksel urine	GC	ng/ml	gem, BL: A: 0,22 B: 0,34 gem, direct: A: 0,54 B: 42,8 gem 1u: A: 0,21 B: 7,86	C
<i>Bisphenol A Blood and Saliva Levels Prior To and After Dental Sealant Placement in Adults(85)</i>	Zimmerman-Down, Shuman, Stull en Ratzlaff.	Journal of Dental Hygiene 2010	m/v 18-40j	30	A: Low-dose (1 sealing) B: High-dose (4 sealings)	baseline 1u post 3u post 24u post	sealing	speeksel bloed	ELISA	ng/ml	BL: A+B: 0,07-6 max 1u: A: 3,98 B: 9,08	C
<i>Release of bisphenol A from resin composite used to bond orthodontic lingual retainers(86)</i>	Kang, Kim, Kim, Won en Nam	American Journal Orthodontics and Dentofacial Orthopedie 2011	m/v 13-32j	22	A: Filtek Flow (nanohybride flowable) B: Z250 Universal Restorative (hybride)	baseline, direct 1u post 1d post 1w post 1m post	composiet	speeksel urine	HPLC MS	ng/ml	BL: A: ND B: 0,8539 max: 20,889 gem 1u: A: 2,3211 B: 7,2676	C
<i>Salivary bisphenol-A levels due to Dental Sealant/Resin: A Case – control Study in Korean Children(87)</i>	Han, Kim, Jun en Kim	Journal of Korean Medical Science 2012	m/v gem 10j	124	A: Cases B: Controls		sealings	speeksel	ELISA	µg/l	max: 8,305 gem: A: 0,92 B: 0,40	CC
<i>Bisphenol A and other compounds in human saliva and urine associated with the placement of composite restorations(16)</i>	Kingman et al.	Journal of American Dental Association 2012	m/v A: gem 44,6j B: gem 43,9j	A: 151 B: 171	A: Speeksel B: Urine	baseline 2x pre Direct post 8u post 30u post	composiet	speeksel urine	LC/MS	ng/ml	MG: A: 0,64	C

m=man, v=vrouw, j=jaar, max=maximaal, gem=gemiddeld, BL=baseline, C=cohort, CC=case-controle, MG=meetkundig gemiddelde, post=na behandeling

Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry

Olea et al. (Environmental Health Perspectives, 1996) (80)

Doel:

- Aantonen dat BPA uit sealings oestrogene effecten heeft en bijdraagt aan de BPA-blootstelling van de mens.

Materiaal:

- Commercieel beschikbare bis-GMA-sealings.

Populatie:

- 18: Gezond, mannen (11) en vrouwen (7), 18-25 jaar, gemiddeld 20 jaar.

Groepen:

- 1 groep van 18 personen.

Methode:

- Speekselcollectie 1u voor het plaatsen van de sealings.
- Sealen van de molaren met de standaardtechniek, 50mg/molaar.
- Speekselcollectie 1u na het plaatsen van de sealings.

Analyse:

- Speekselanalyse door middel van high-performance liquid chromatography (HPLC) en gaschromatografie(GC)/massaspectrometrie(MS).

Resultaten:

- Geen van de te onderzoeken componenten aanwezig voorafgaand aan de behandeling.
- Na behandeling bis-GMA, BADGE, BPA en bis-DMA aanwezig.
- Na behandeling 90-931 µg BPA aanwezig in speeksel (3,3-30,0 ug/ml), gemiddeld 9,73µg/ml.
- Eén subject twee jaar eerder sealings gekregen, daardoor reeds BPA in speeksel voor behandeling en daarom geëxcludeerd.

Conclusie:

- Sealings dragen bij aan blootstelling van de mens aan xeno-oestrogenen.

Opmerkingen:

- Populatie: Wat waren de in- en exclusie-criteria?
- Procedure: Welke 'standaardtechniek' is gebruikt bij het plaatsen van de sealings? Is de zuurstofgeïnhibeerde laag verwijderd?
- Materiaal: Welke sealing is gebruikt? Wat was de samenstelling van het sealingsmateriaal?

- Analyse: Wat waren de detectie- en kwantificatiegrenzen van BPA?

Time-related bisphenol-A content and estrogenic activity in saliva samples collected in relation to placement of fissure sealants

Arendholt-Bindslev et al. (Clinical Oral Investigations 1999) (81)

Doel:

- Bepalen van de hoeveelheid BPA doorheen de tijd in speeksel, afgenomen voor en na plaatsen van twee verschillende sealingsmaterialen met een eigen monomeersamenstelling.

Materiaal:

- PFSI: Delton LC (Dentsply) en Visio-Seal (ESPE).

Populatie:

- 8 mannen, gezond, vrijwilligers, 20-23 jaar.
- Exclusie: Historie van eerdere sealings of composiet-restauraties.

Groepen:

- 2 groepen.
- A: 4 personen, behandeld met Delton LC, per persoon 4 molaren.
- B: 4 personen, behandeld met Visio-Seal, per persoon 4 molaren.

Methode:

- Eerste speekselafname, 5ml, 's morgens voor eten, mond spoelen en tandenpoetsen = sample 1.
- PFSI: Reiniging oppervlak met puimpasta zonder olie en fluoride. Spoelen met waterspray. Isolatie met wattenrollen. Drogen met luchtsput. 60s etsen, 30s spoelen, drogen. Eventueel bijkomend 20s etsen. Re-isolatie tanden met wattenrollen. Sealing plaatsen volgens richtlijnen fabrikant. Polymeriseren met zichtbaar licht gedurende 30s, afstand van tip tot oppervlak 1-2mm. Oppervlak afvegen met wattenrol (verwijderen zuurstofgeïnhibeerde laag).
- Gemiddeld 38 ± 3 mg sealant per persoon.
- Direct na sealen speekselafname, 5ml, = sample 2.
- Afwerking sealings in verband met occlusie.
- 1u na sealen speekselafname = sample 3.
- 24u na sealen speekselafname = sample 4.

Analyse:

- HPLC : Detectiegrens 0,1ppm, kwantificatiegrens 0,3ppm.

Resultaten:

- Alle samples bevatten BPA gelijk aan of beneden detectielimit van 0,1ppm, behalve sample 2 van groep A.
- Sample 2 van groep A heeft BPA-levels van 0,3-2,8ppm, gemiddeld 1,43ppm.

Conclusie:

- BPA aanwezig in speeksel na plaatsen Delton-LC-sealings, hoewel in lagere concentraties dan bij eerdere onderzoeken en alleen direct na plaatsen van de sealing. 1u na plaatsing kan geen BPA meer gedetecteerd worden.
- Op basis van deze bevindingen is er geen reden tot bezorgdheid met betrekking tot BPA blootstelling na plaatsen van (Delton-)sealings.
- Na plaatsen Visio-Seal is er geen BPA te detecteren in speeksel.

Discussie:

- Lagere BPA-levels vastgesteld na sealen dan in het onderzoek van Olea. Verklaring: Grote hoeveelheden PFSI gebruikt door Olea et al (1996) , mogelijk is de zuurstofgeïnhibeerde laag niet verwijderd en mogelijk is de HPLC verkeerd geïnterpreteerd (TEGDMA lijkt op een chromatogram veel op BPA).
- BPA aanwezig na plaatsen van Delton-LC mogelijk afkomstig van Bis-DMA.

Opmerkingen:

- Populatie: Er zijn zeer kleine onderzoeksgroepen gebruikt. Hoe zijn de proefpersonen geselecteerd? Welke in- en exclusiecriteria zijn gehanteerd?

Pharmacokinetics of bisphenol A released from a dental sealant

Fung et al. (Journal of American Dental Association 2000) (82)

Doel:

- De snelheid en het tijdsverloop van BPA-vrijstelling uit sealings analyseren door middel van speekselanalyse. Analyse van sealings die geplaatst zijn met totale hoeveelheden bij één persoon van 8mg of 32mg. Tevens bepalen of er een significante absorptie van BPA in het bloed optreedt, door middel van bloedanalyse.

Materiaal:

- Sealingsmaterialen: Delton Opaque Light-cure Pit and Fissure Sealant.
- Samenstelling bepaald door middel van HPLC.

Populatie:

- 40 personen, 20-55 jaar, gezond, 18 mannen (gemiddeld $32,3 \pm 2,3$ jaar) en 22 vrouwen ($34,1 \pm 1,9$ jaar).
- Exclusie: Acute dentale problemen met harde of zachte weefsels, bestaande composietrestauraties of een historie van blootstelling aan industriële of dentale kunstharsen, zwangere vrouwen.

Groepen:

- Twee groepen: Low- en high-dose.
- Groep A, lowdose: 1 sealing van 8mg, 7 mannen en 11 vrouwen.
- Groep B, highdose: 4 sealings van 8mg, totaal 32mg, 11 mannen en 11 vrouwen.

Methode:

- Afname speeksel (5,5-7,0 ml) (na 30 minuten in recipiënt spuwen) en bloed (20-30ml) 1u voor behandeling.
- Plaatsen wattenrollen, afzuigen speeksel, conditioning van oppervlak met 37%-fosforzuurgel gedurende 15s. 10s spoelen, drogen met luchtspuit. Sealingapplicatie door met pipet de gewenste hoeveelheid sealer aan te brengen. Elke sealing polymeriseren gedurende 60s volgens instructies fabrikant. Na verwijderen isolatie occlusie controleren. Eventuele premature contacten met boor verwijderen.
- Na behandeling speeksel- en bloedafname na 1u, 3u, 1 dag, 3 dagen en 5 dagen.

Analyse:

- HPLC: Detectielimiet 5ppb of 5 ng/ml.

Resultaten:

- BPA in speeksel na 1u en 3u in groep A en B, maar niet na 24u of later: 5,8-105,6ppb.
- Meting BPA in speeksel geeft significant verschil aan tussen groep A en B na 1u en na 3u. In groep A significant verschil tussen 1u en 3u na plaatsen. In groep B resultaten te beperkt voor een statistische test.
- Geen BPA in het bloed gevonden.

Conclusie:

- Uit een sealing vrijgestelde BPA wordt niet geabsorbeerd in het bloed.
- Dosis- en tijdsafhankelijke BPA vrijstelling uit PFSI Delton Opaque Light-cure tot 3u na plaatsen van de sealing.
- Recente bezorgdheid over het potentiële oestrogene karakter van sealings is ongegrond.

Discussie:

- TEGDMA is in deze studie geanalyseerd om verwarring tussen BPA en TEGDMA op chromatogram te voorkomen.
- In-vitro-studies tonen aan dat BPA niet zou lekken, maar deze nemen factoren als speekselvloed, kauwen en occlusale contacten niet in rekening, waardoor BPA bij in vivo wel vrijgesteld wordt.
- In deze studie is de hoeveelheid vrijgestelde BPA veel lager dan bij Olea et al (1996) en lager dan bij Arenholt-Bindslev, Breinholt, Preiss en Schmalz (1999) hoewel in alle drie de studies het zelfde merk sealing is gebruikt. Het verschil is waarschijnlijk te verklaren door de grote hoeveelheden sealer gebruikt door Olea et al (1996) en de daaruit volgende onvolledige polymerisatie.
- Bron van BPA in deze studie onduidelijk, het is geen bestanddeel van dit sealingsmateriaal, eventueel afkomstig uit bis-GMA of bis-DMA.
- BPA 3u na sealen niet meer in speeksel aanwezig. In het geheel niet aanwezig in bloed na sealen. BPA wordt niet in bloed geabsorbeerd, of blijft in bloed beneden detectielimiet of het wordt gemetaboliseerd.

Opmerkingen:

- Populatie: Hoe zijn de proefpersonen geselecteerd?
- Procedure: Is de zuurstofgeïnhibeerde laag verwijderd? Welke polymerisatietijd is gebruikt?
- Analyse: Wat is de invloed van speekselverzameling op de BPA concentratie in het bloed?

Salivary bisphenol-A levels detecte bij Elisa after restoration with composite resin
Sasaki et al. (Journal of Materials Science: Materials in Medicine 2005) (83)

Doel:

- De veranderingen in BPA-concentraties in speeksel na restauratie met composiet bepalen.

Materiaal:

- Composiet: Z100 (A), Progress (B), Palfique Toughwel I(C), Matafil Flo (D), Unifil S (E), Beautifill (F), Xeno CFII (G), Prodigy (H), Cleafil ST (I).

Populatie:

- 21 personen.

Groepen:

- A: 4 personen, B: 2, C:2, D:2, E:2, F:3, G:2, H:2, I:2.
- Groep 1: A, C, F, G, H en I (bis-GMA monomeren).
- Groep 2: B, D en U (UDMA monomeren).

Methode:

- Direct voor restauratie speekselafname (Procedure: Gedurende 5 minuten op paraffine kauwen).
- Preparatie, bij iedere patiënt bijna gelijke caviteitsgrootte, bonding, polymerisatie 30s volgens handleiding fabrikant, restauratie met 0,1g composiet, 1min polymerisatie, afwerking met polijstrubber.
- Speekselafname.
- Direct na restauratie 30s spoelen met water.
- Direct na spoelen speekselafname.

Analyse:

- ELISA .

Resultaten:

- Direct na restauratie in bis-GMA-groep max. 100ng/ml BPA.
- Direct na restauratie in UDMA-groep max. 40ng/ml BPA.
- Na spoelen in bis-GMA-groep max. 18ng/ml.
- Na spoelen in UDMA-groep max. 5ng/ml.

Conclusie:

- Voldoende spoelen na behandeling reduceert BPA-concentratie in speeksel tot 10ng/ml direct na restauratie.
- Bij zwangere vrouwen en kinderen is het belangrijk om het juiste materiaal te selecteren en voldoende te spoelen om blootstelling aan endocriene disruptors zo laag mogelijk te houden.

Discussie:

- Olea et al (1996) hebben hogere concentraties BPA gevonden door foute interpretatie van de HPLC.
- Voldoende spoelen na behandeling reduceert BPA-concentratie in speeksel tot 10ng/ml direct na restauratie.

- Bij zwangere vrouwen en kinderen is het belangrijk om het juiste materiaal te selecteren en voldoende te spoelen om blootstelling aan endocriene disruptors zo laag mogelijk te houden.

Opmerkingen:

- Populatie: Hoe zijn de proefpersonen geselecteerd? Welke in- en exclusiecriteria zijn gehanteerd?
- Analyse: Wat waren de detectie- en kwantificatiegrenzen?

Exposure to bisphenol A from bis-glycidyl-dimethacrylate-based dental sealants
Joskow et al. (JADA 2006) (84)

Doel:

- BPA blootstelling meten na plaatsen van klinisch relevante sealers (relevant aangaande hoeveelheid materiaal en morfologie). Blootstelling wordt gemeten door BPA-concentraties in speeksel en urine te bepalen.

Materiaal:

- Sealer: Helioseal F, Delton Light Cure.

Populatie:

- 15 gezonde militairen, 1 vrouw, 14 mannen.
- 19-42 jaar, gemiddeld 30 jaar.
- Exclusie: Bestaande composietrestauraties, sealings of andere kunstharsproducten in de mond, rokers, antihistaminica-gebruikers (allergie), Gilbert syndroom (leverproblemen).

Groepen:

- Groep A: Helioseal-groep.
- Groep B: Delton-groep.
- Tevens analyse van het totaal.

Methode:

- Vlak voor sealen speekselafname (4ml) met speciaal hulpmiddel, gedurende 2 minuten kauwen op wattenrol. Tevens urineafname (10ml).
- Tandarts kiest het merk sealing, meten hoeveelheid sealer gebruikt is, noteren merk sealer, aantal sealings, hoeveelheid sealer, op welke elementen sealings geplaatst zijn en welke sealings occlusale aanpassing nodig hadden.

- Isolatie element met wattenrol, etsen, sealen, polymeriseren met lamp waarvan intensiteit steeds getest is (534-803 mw/cm²).
- Direct na sealen speekselafname.
- 1u na sealen speeksel- en urineafname.
- 24u na sealen urine-afname.

Analyse:

- GS en hoge-resolutie massaspectrometrie .
- Detectielimiet van 0,1ng/ml.
- Laboranten werkten blind.

Resultaten:

- Uitval: Eén deelnemer werd ziek, enkel baseline speeksel en urine. Bij één deelnemer geen speekselafname direct na sealen doordat deze persoon direct wegging.
- 4 tandartsen, geen verschil in resultaten.
- Per deelnemer 1 soort sealing.
- Gemiddeld 6 sealings per patiënt, gemiddeld 40,35g materiaal per patiënt, 7,36g materiaal per gebitselement.
- Geen statistische verschillen tussen aantal tanden of tussen hoeveelheid sealer per merk.
- Baseline speeksel was 0,17-96,2ng/ml, geen verschil per merk. Gemiddeld A:0,22ng/ml, B:0,34ng/ml, A+B:0,30ng/ml.
- Direct na behandeling BPA-concentratie bij Delton 80x hoger dan bij Helioseal: gemiddeld B:42,8ng/ml tegen A:0,54ng/ml, tevens een verschil na 1u.
- Direct na behandeling BPA-concentratie 50 keer hoger dan voor behandeling, wanneer gecorrigeerd per merk, dan 84x hoger voor Delton LC.
- Direct na behandeling bij alle deelnemers, A+B: 26,5ng/ml.
- Na 1u, A:0,21ng/ml, B:7,86ng/ml, A+B:5,12ng/ml.
- BPA-concentraties in urine 0,6-112,2 ng/ml. 1u na Delton LC BPA 5 keer hoger dan baseline. Bij Helioseal geen verschil.

Conclusie:

- BPA lekt uit Delton LC. BPA-concentraties in speeksel stijgen. Verhoogde urineconcentraties tot 24u na plaatsen.
- Ruwe inschattingen geven aan dat acute doses BPA na Delton LC resulteren in een low-dose-blootstelling in de range bij welke oestrogeen-receptor-gemedieerde effecten

worden gezien bij proefdieren. Verder onderzoek nodig voor kennis over effect van deze blootstellingen. BPA-blootstelling kan gereduceerd worden door polijsten van het oppervlak van de sealing en het verwijderen van speeksel na sealen.

Discussie:

- Olea et al (1996) hebben grote hoeveelheden sealer gebruikt.
- BPA stijgt sterk na sealen met Delton LC. Dit is ook het geval bij het onderzoek van Arenholt-Bindslev et al. (1999). Zij hebben echter een onnauwkeurige methode gebruikt om BPA-concentraties te bepalen. In de huidige studie is een methode gebruikt die veel nauwkeurig is en daarom ook 1u na plaatsen nog BPA kan aantonen.
- BPA-concentraties gelijkaardig aan Fung et al. (2000) en Sasaki et al. (2005).
- Lage concentraties BPA in urine, daarnaast corresponderen de concentraties niet met concentraties in speeksel. De procedure is hiervan misschien de oorzaak doordat een deel van het speeksel gebruikt wordt voor analyse?
- Limitaties: Kleine onderzoeksgroep, enkel militairen, groep is niet representatief voor algemene bevolking.

Bisphenol A Blood and Saliva Levels Prior To and After Dental Sealant Placement in Adults

Zimmerman-Downs et al. (Journal of Dental Hygiene 2010) (85)

Doel:

- Het onderzoeken van het effect van sealen op BPA concentraties in speeksel en bloed, doorheen de tijd, door het vergelijken van high- en low-dose-groepen.

Materiaal:

- Delton Pit&Fissure sealant, Light Cure Opaque.

Populatie:

- 30 personen, mannen en vrouwen, 18-40 jaar.
- Geen eerdere sealings of composiet restauraties gekregen of eerder blootgesteld aan ruw BPA (industrie).

Groepen:

- Groep A: Low-dose: 1 occlusale sealing.
- Groep B: High-dose: 4 occlusale sealings.
- Deelnemers willekeurig verdeeld over de 2 groepen.

Methode:

- 1u voor sealing speekselafname.
- Sealings: Gebruik van klinisch relevante hoeveelheden sealings, plaatsen sealings volgens instructies fabrikant.
- 1u, 3u en 24u na sealing speekselafname.
- Bloedafname 1u en 3u na sealen.

Analyse:

- ELISA.
- Kwantificatiegrens: 0,05ng/ml.

Resultaten:

- BPA meetbaar op baseline. Significant verschil BPA tussen pre- en alle post-perioden in beide groepen, er is een toename van de BPA-concentratie.
- Significant verschil tussen high- en low-dose groep 1u post en 3u post, geen significant verschil 1u pre en 24u post.
- BPA in bloed beneden de kwantificatiegrens.
- BPA in speeksel 1u voor sealen: 0,07-6,00ng/ml in beide groepen.
- BPA in speeksel in low-dose maximaal 3,98ng/ml en in high-dose: 9,08ng/ml.

Conclusie:

- BPA-blootstelling reduceren door het gebruik van producten met ADA Seal of Acceptance. Verder onderzoek nodig naar de bijdrage van dentale producten aan BPA-blootstelling en naar omgevingsinvloeden op BPA-blootstelling.

Discussie:

- Aanwezigheid BPA voorafgaand aan sealen is waarschijnlijk het gevolg van chronische blootstelling.
- Resultaten in overeenstemming met Olea et al. (1996), Fung et al. (2000) en Joskow et al. (2006).
- De BPA-concentratie 1u en 3u na sealen is het gevolg van niet-gepolymeriseerd of lekkend BPA.
- De piekconcentratie ligt tussen 1u en 3u na sealen.
- Dalende BPA-concentraties tussen 3u en 24u na sealen.
- Geen detecteerbare BPA-hoeveelheden in bloed, BPA wordt niet opgenomen in bloedcirculatie. In overeenstemming met Fung et al (2000).

Opmerkingen:

- Procedure: Hoe zijn de sealings geplaatst? Is de zuurstofgeïhibeerde laag verwijderd?.
- Populatie: Welke in- en exclusiecriteria zijn gehanteerd?

Release of bisphenol A from resin composite used to bond orthodontic lingual retainers

Kang et al. (American Journal Orthodontics and Dentofacial Orthopedie 2011 (86)

Doel:

- De hoeveelheid BPA in speeksel en urine bepalen die vrijgekomen is na het plaatsen composiet voor het bonden van linguale retainers tijdens de eerste maand na plaatsen, om zo de veiligheid van Bis-GMA te bevestigen.

Materiaal:

- Filtek Flow, flowable composiet.
- Z250 Universal Restorative, hybride composiet.

Populatie:

- 22 vrijwilligers, 10 mannen (gemiddeld 19,9 jaar, range 13-25 jaar) en 12 vrouwen (gemiddeld 23,1 jaar, range 13-32 jaar).
- Vrijwilligers, orthodontische behandeling gehad, stonden gepland voor plaatsen retainer.
- Exclusie van rokers, patiënten met gezondheidsproblemen (o.a. nier- en leverziekten) en patiënten die mogelijk een chronische, zware BPA blootstelling door werk/woonplaats ondervinden.

Groepen:

- Groep A: Flowable-composiet-groep (n=10).
- Groep B: Hybride-composiet-groep (n=12).
- Er is willekeurig bepaald welke patiënten in welke groep werd ingedeeld.
- Elke groep is nog verdeeld in subgroepen: puimen of spoelen na plaatsen.

Methode:

- 1 week voor plaatsen van de retainer afbraak van de orthodontische apparatuur, tijdelijke en uitneembare retainer, om zo BPA blootstelling door verwijderen van de bracketbonding te voorkomen.
- Afname speeksel en urine direct voor plaatsen.

- Plaatsen linguale retainer, van 3-3 of 4-4. Willekeurig bepaald of patiënt Filtek Flow of Z250 kreeg. Etsen 15s. Plaatsen. Gebruik plasma-xenon-light, 1900mw/cm². Uitharden gedurende 3s per oppervlak, elk element occlusaal en linguaal. Daarna of puimen of enkel spoelen gedurende 5sec. Ook type van oppervlakte-profylaxis is willekeurig bepaald.
- Na 30min afname speeksel.
- Na 1 dag, 1 week en 1 maand afname speeksel en urine.

Analyse:

- HPLC en MS, detectielimiet 0,5ng/mm.

Resultaten:

- BPA in speeksel baseline 0,853-20,889ng/ml .
- Direct na plaatsen significante toename BPA in speeksel ten opzichte van baseline.
- Andere speeksel samples (1dag, 1 week, 1 maand) tonen geen verschil.
- Urine-samples tonen ook geen verschillen.
- Z250 hogere BPA levels dan Filtek direct na plaatsen.
- Z250: Hogere BPA bij spoelen vergeleken met puimen direct na plaatsen Z250.
- Puimen geen invloed bij Filtek.
- Geen verband tussen leeftijd en geslacht.
- Gemiddeld BPA in speeksel direct na plaatsen: Algemeen: 20,889ng/ml. Filtek: 2,3211ng/ml, Z250 :7,2676 ng/ml, Filtek+spoelen: 2,2458 ng/ml, Filtek+puimen: 2,4153 ng/ml, Z250+spoelen: 10,6280 ng/ml, Z250+puimen: 1,3865.

Conclusie:

- BPA lekkage uit bis-GMA-composiet voor het plaatsen van een lingual-bonded-retainer ver beneden TDI. In verband met low-dose effecten is deze vrijstelling misschien toch relevant.
- Zuurstofgeïnhibeerde laag lijkt de grootste bron van directe BPA vrijstelling te zijn. Deze laag reduceren is belangrijk om lekkage te verminderen.
- Nanohybride composiet stelt minder BPA vrij dan conventioneel hybride composiet.
- Puimen van conventioneel hybride composiet reduceert lekkage BPA significant.

Discussie:

- Composieten gebruikt voor linguale retainers stellen groter oppervlak bloot aan het orale milieu dan composieten gebruikt voor sealings en vullingen. Groter deel van

composiet staat bloot aan slijtage. Hierdoor misschien een grotere blootstelling aan BPA. In deze studie blijkt BPA-lekkage uit retainers toch beperkt.

- BPA-lekkage geen probleem met huidige TDI, maar wel in verband met low-dose-effecten. BPA-lekkage moet zo veel mogelijk worden verminderd.
- BPA-blootstelling in deze studie te beperkt om effecten te zien in urine
- Puimen verwijdert zuurstof-geïnhibeerde laag. Na puimen minder BPA in speeksel. BPA in speeksel is dus voornamelijk afkomstig uit zuurstofgeïnhibeerde laag. Oppervlakte-profylaxis van composiet om BPA-lekkage te verminderen is aangewezen.
- In verband met detectielimiet na 1u wel BPA-lekkage, maar lager dan 0,5ug/ml.
- Flowable-composiet heeft dikkere zuurstofgeïnhibeerde laag en nano-composieten hebben lagere polymerisatiegraad, in deze studie echter meer BPA-lekkage bij hybride-composiet. Waarschijnlijk veroorzaakt door soort polymerisatielamp. (plasma-lamp)? Verschil tussen nano-flowable- en hybride-composiet onverklaarbaar.
- Beperking bij deze studie is het aantal deelnemers. Tevens is BPA-blootstelling mogelijk onderschat in de meting 1dag na restauratiedoor het orgaangebonden-BPA.

Opmerkingen:

- Populatie: Welke in- en exclusiecriteria zijn gehanteerd? Er zijn kleine groepen gebruikt.
- Methode: Wat is de invloed van het gebruik van de plasmalamp op het resultaat?

Salivary bisphenol-A levels due to Dental Sealant/Resin: A Case –control Study in Korean Children

Han et al. (Journal of Korean Medical Science 2012) (87)

Doel:

- Onderzoeken of het voorkomen van BPA in speeksel van Koreaanse kinderen afhankelijk is van het aantal oppervlakken gevuld met dentale sealings/kunstharsen. Het bepalen van een cut-off-level waarop BPA in speeksel een hoger blootstellingsrisico geeft.

Populatie:

- 124 kinderen uit Community Child Centers, centra die zorgen voor naschoolse opvang van arme kinderen in Korea.

- 62 cases zijn gelinkt aan 62 controls, gematcht door leeftijd en geslacht. Cases met meer dan 4 tandoppervlakken gevuld met sealings/kunstharsen.
- Gemiddeld 10 jaar oud.
- Exclusie: Wanneer subject geen speekselvloed had, wanneer data ontbrak, wanneer kinderen of ouders/zorgverleners deelname weigerden.

Groepen:

- Cases en controls.

Methode:

- 2 uur voor speekselcollectie niet eten/drinken (15u-17u). Mond spoelen met water.
- Speekselafname na 5 minuten kauwen op blokje was.
- Interview: Leeftijd, geslacht, aantal snacks, poetsgewoonten.
- Bepalen speeksselflow en speekselbuffercapaciteit .

Analyse:

- BPA meten met ELISA, niet gevalideerd met HLPC of GC.

Resultaten:

- Geen verschil in leeftijd en poetsfrequentie.
- Significant verschil in speekselbuffercapaciteit en frequentie van tussendoortjes.
- Geen significant verschil in BPA-level.
- Wel significant verschil BPA-level na aanpassing van leeftijd, geslacht, speekselvloeï, speekselbuffercapaciteit, frequentie tussendoortjes, poetsfrequentie.
- BPA in speeksel 0,002 tot 8,305ug/l, 95 percentiel concentratie was 3,867ug/l
- Na aanpassen cases gemiddeld 0,92 µg/l en controls 0,40µg/l.
- Ten opzichte van de huidige TDI zijn deze concentraties niet van belang, maar wel indien er low-dose-effecten zijn. Maatregelen nemen om blootstelling BPA te verlagen.

Conclusie:

- Er is BPA detecteerbaar in speeksel en mogelijk is er een verband tussen BPA in speeksel en sealings/composieten bij Koreaanse kinderen. Deze bevindingen moeten aanzetten tot maatregelen om blootstelling aan BPA in dentale materialen te verminderen.

Discussie:

- Kracht van dit onderzoek: Orale inspectie door tandarts en getraind tandheelkundig personeel, er is rekening gehouden met confounders, grote onderzoeksgroep, logistische regressie is toegepast om selectiebias uit te sluiten.
- Beperkingen van dit onderzoek: Er kan sprake zijn van selectiebias, de populatie is niet representatief voor Koreaanse kinderen, BPA in speeksel is waarschijnlijk niet enkel het gevolg van blootstelling aan tandheelkundige composieten maar ook van blootstelling aan tal van andere bronnen, er zijn geen gegevens over wanneer sealings zijn geplaatst en welke sealingsmaterialen zijn gebruikt, ELISA-test niet voldoende gevalideerd.

Opmerkingen:

- Populatie: Geen standaardpopulatie.
- Analyse: ELISA niet gevalideerd.
- Materiaal: Welke restauratiematerialen zijn gebruikt?

Bisphenol A and other compounds in human saliva and urine associated with the placement of composite restorations

Albert Kingman et al. (JADA 2012) (16)

Doel:

- Bepalen of er verandering van concentratie van BPA en andere studie-componenten in urine/speeksel plaatsvindt na het plaatsen van dentale composieten, vergeleken met background levels.

Populatie:

- 171 personen voor urineonderzoek, m/v, gemiddeld 43,9 jaar , waarvan 151 personen voor speekselonderzoek, m/v, gemiddeld 44,6 jaar.
- Militairen van verschillende bases, die minstens 1 vulling nodig hadden.
- Exclusie: Compositet/sealings minder dan 3 maanden geleden geplaatst, patiënten die uitneembare retentieapparatuur/prothese dragen.

Groepen:

- Speekselgroep.
- Urinegroep.

Materiaal:

- Filtzek Z250, Tetric Flow, Heliomolar, Heliomolar MB en Esthet-X.

Methode:

- Aantal weken voor behandeling: Vragenlijst over eet- en drinkgewoonten, voedselverpakkingen, welk water uit welke verpakkingen gedronken is, consumptie voedsel uit blik, tussendoortjes, gezondheid. Afname speeksel en urine.
- Dag van behandeling: Vragenlijst over eten/drinken van afgelopen 24 uur en afname speeksel en urine.
- Plaatsen vulling. Noteren merk composiet, aantal behandelde elementen, geschatte hoeveelheid gebruikt vullingsmateriaal, wel/geen rubberdam gebruikt.
- Binnen 1u na behandeling afname speeksel en urine.
- 8u of 30u na behandeling afname speeksel en urine.

Analyse:

- LC/MS.

Resultaten:

- 1 patiënt kon niet op consultatie komen voor de derde speekselafname, deze patiënt is niet in de analyse opgenomen.
- <10% deelnemers had detecteerbare hoeveelheden BPA in speeksel voor aanvang van het onderzoek en bij 50-60% is BPA in de urine gevonden.
- Leeftijd is negatief gecorreleerd met achtergrond BADGE, bis-DMA en bis-GMA in urine en positief gecorreleerd met veranderingen in bis-GMA na plaatsen composiet.
- Geen associatie van leeftijd/geslacht/ras met achtergrondconcentraties en outcome-variabelen.
- Gemiddeld 120mg composiet gebruikt (geschat) per deelnemer.
- Geen associaties tussen aantal reeds bestaande composietrestauraties en één van de studie-componenten in urine voor behandeling.
- Mannen en vrouwen hebben vergelijkbare percentages studie componenten in speeksel en urine voor en na behandeling, behalve bis-DMA. Bij een groter percentage vrouwen dan mannen bis-DMA gevonden (=consistent met geslachtsafhankelijke detectielimiet).
- Significante toename BPA, BPAHPE en TEGDMA en Bis-GMA in speeksel binnen 1u na behandeling.
- Toename BPA in speeksel binnen 1 uur lager bij vrouwen, maar toename bis-GMA bij vrouwen hoger.

- BPAHPE en bis-GMA blijven verhoogd tot 8u na behandeling, andere compounds binnen 1-8u naar niveau van voor behandeling. Op 8u geen significant verschil meer.
- Gebruik rubberdam verlaagt speekselconcentraties BPAHPE en bis-GMA, verder geen significante verschillen tussen wel of geen rubberdam.
- Geen verschil anterior of posterior vullingen.
- Afname concentraties BPA en bis-GMA in urine binnen 1u na behandeling bij mannen en vrouwen.
- Toename van BPAHPE, TEGDMA, BPA 9-30u bij allen.
- Gebruik rubberdam geen effect op urineconcentraties.
- Geen verschil anterior of posterior vullingen. Enkel grotere toename BPAHPE 1-8u na restauratie bij anterior vullingen.
- BPA in speeksel na 1u: alle deelnemers: 0,64 ng/ml, vrouwen: 0,63 ng/ml, mannen 0,66 ng/ml.

Conclusies:

- BPA aanwezig voor behandeling in speeksel en urine. Toename BPA in speeksel en urine na behandeling. Toename van BPA in speeksel van korte duur.
- Veranderingen in urineconcentraties moeilijk te interpreteren. Eerst afname in 1^e uur, daarna toename na 9-30u post. BPA-concentraties in urine zijn toegenomen met 43% bij laatste afname.
- Rubberdam geen invloed op absorptie van compounds, waarschijnlijk gaat absorptie door na plaatsen restauratie.

Discussie:

- Gebruik rubberdam bijna geen effecten, waarschijnlijk doordat lekkage componenten doorgaat na verwijderen rubberdam.
- Invloed van adhesieven niet meegenomen aangezien de gebruikte adhesieven niet bekend zijn.
- Verschil in pre-BPA-concentraties in vergelijking tot andere studies waarschijnlijk door de grote variatie in BPA-concentraties in populaties.
- Joskow e al. (2006) tonen direct toename BPA in speeksel en urine na plaatsen sealings. In dit onderzoek eerst afname BPA in urine en daarna toename gedurende 9-30u na behandeling. Mogelijk te verklaren door verschil in samenstelling composieten voor sealings en composieten voor restauraties.

- Gebruikte hoeveelheid composiet is slechts een schatting, dit had gewogen moeten worden.
- De follow-up is van korte duur geweest. Om invloed composiet en achtergrondblootstelling te kunnen onderzoeken is een langere follow-up beter.
- Geen associatie pre-BPA-concentratie in urine en aantal reeds bestaande composietrestauraties. Mogelijk is bijdrage restauraties aan BPA-concentratie niet detecteerbaar in urine over langere termijn.

Opmerkingen:

- Populatie: Het is geen standaardpopulatie. Welke in- en exclusiecriteria zijn gehanteerd?
- Procedure: Is de zuurstofgeïnhibeerde laag verwijderd?

Samenvatting Paragraaf 3.3.

- BPA is voor restauratie al aanwezig in het speeksel. De BPA-speekselconcentratie neemt significant toe na restauratie vergeleken met de baselineconcentratie. Tot 1 uur na restauratie is het verschil significant.
- In de oudste studie zijn na restauratie de hoogste BPA-concentraties in speeksel gemeten. De gevonden BPA-concentraties nemen af naarmate de studies recenter zijn.
- De gemiddelde BPA-concentraties die tot 1 uur na restauratie gemeten zijn variëren van 0,54ng/ml tot 9,73ug/ml ($9,73 \cdot 10^3$ ng/ml). De maximale BPA-concentraties die tot 1 uur na restauratie gemeten zijn variëren van 3,98ng/ml tot 30ug/ml ($30 \cdot 10^3$ ng/ml).
- BPA is niet in het bloed gedetecteerd.
- In urine is ook BPA aanwezig. De BPA-concentraties voor en na restauratie zijn echter niet significant verschillend.
- Het verwijderen van de zuurstofgeïnhibeerde laag zorgt voor een significante reductie van de BPA-vrijstelling.

4. DISCUSSIE

De geïncludeerde klinische BPA-lekkage studies zijn zeer divers. Er zijn verschillende soorten studies te onderscheiden: de sealing groep (prospectief) (80-82, 84, 85), de vulling-groep (prospectief) (16, 83), één studie die is uitgevoerd met composiet voor ortho-retainers (prospectief) (86) en een retrospectieve case-control-studie (87).

Allereerst is er een verschil in de tijd van publicatie van de onderzoeken. De oudste studie (80) dateert uit 1996, terwijl de meest recente studie (16) in 2012 is uitgevoerd. Alle studies hebben een significante toename van de BPA-concentraties in speeksel na restauratie gevonden vergeleken met de BPA-concentraties voor restauratie. In de meeste studies (16, 81, 84-86) is er voor restauratie al BPA in speeksel gedetecteerd. Andere studies hebben voor de restauratie geen BPA gevonden (80), of de BPA-concentratie ligt beneden de detectiegrens (81), of de baseline-informatie is niet vermeld (82, 83). De toename in BPA-concentratie is tot een uur na restauratie meetbaar. Ook de case-control-studie toont een significant verschil in BPA-concentraties in speeksel tussen de controlegroep zonder composietrestauraties en/of sealings en de cases, hoewel ook in de controlegroep BPA in het speeksel aanwezig blijkt te zijn. De meer recente studies rapporteren echter steeds lagere BPA-concentraties in speeksel. De oudste studie (80) heeft de hoogste BPA-concentratie in speeksel gevonden van $30\mu\text{g/ml}$ ($3,0 \cdot 10^4 \text{ ng/ml}$) (gemiddeld $9,73\mu\text{g/ml}$), bij de latere studies zijn dergelijke hoge concentraties niet gevonden.

De case-control-studie (87) heeft een significant verschil gevonden in de BPA-concentraties in speeksel tussen de case- en de controlegroep. Dit impliceert dat de BPA-concentraties in speeksel chronisch verhoogd zijn na restauratie met sealings/composiet. De prospectieve studies die een uur na restauratie nog BPA-concentraties in speeksel hebben bepaald (81, 85, 86) hebben echter na een uur na restauratie geen significante verschillen gevonden tussen BPA-concentraties voor en na restauratie. Slechts één studie (82) heeft een significant verhoogde BPA-concentratie gevonden een tot drie uur na restauratie. Hierbij dient opgemerkt te worden dat bij twee prospectieve studies (81, 82) de gevonden BPA-concentraties in de case-control-studie (87) beneden de detectiegrenzen van deze prospectieve studies lagen. Voor de andere prospectieve studies (85, 86) was dit niet het geval.

Wanneer de studies van Zimmerman-Downset al. (2010) (85), Kang et al. (2011) (86) en de case-controlestudie van Han et al. (2012) (87) met elkaar worden vergeleken dan vertonen deze studies grote verschillen in opzet. Mogelijk heeft de case-controlestudie chronisch verhoogde BPA-concentraties gevonden doordat bij de cases vrij grote hoeveelheden kunstharismaterialen in de mond aanwezig waren, namelijk minstens vier gerestaureerde oppervlakken (vulling en/of sealing). In de studie van Zimmerman-Downs et al. (2010) (85) hebben de patiënten hooguit 4 sealings gekregen. In de studie van Kang et al. (2011) (86) is ook een groter aantal van zes tot acht oppervlakken ‘gerestaureerd’ voor het bonden van een linguale retainer. Een ander verschil tussen de case-controle-studie (87) en de twee andere studies (85, 86) is de populatie. Deze bestaat in de case-controle-studie (87) uit kinderen van gemiddeld 10 jaar, terwijl bij de andere studies patiënten van 13 tot 40 jaar zijn betrokken. In de case-controle-studie (87) is ook een niet gevalideerde analysemethode gebruikt, die mogelijk de BPA-concentratie in speeksel overschat.

De verschillende studies binnen elke groep met elkaar vergelijken is moeilijk door de grote variatie van de studies binnen elke groep. Er is slechts één case-controle-studie beschikbaar (87). Er is ook slechts één studie die onderzoek heeft gedaan naar de BPA-vrijstelling uit linguale retainers (86). Er zijn twee studies die onderzoek doen naar de BPA-vrijstelling uit composietrestauraties (16, 83). Omdat in één van deze studies (16) aangaande de BPA-concentraties voor en na restauratie enkel de meetkundige gemiddelden worden vermeld is deze moeilijk te vergelijken met de andere studie naar composietrestauraties die enkel rekenkundige gemiddelden vermeldt. Enkel de sealinggroep bevat meerdere studies die met elkaar te vergelijken zijn.

De sealinggroep omvat een vijftal studies, uitgevoerd tussen 1996 en 2010. Alle studies hebben (onder andere) het sealingsmateriaal Delton LC gebruikt. In de oudste studie (80) zijn de hoogste BPA-concentraties gemeten. Hoewel de andere studies (81, 82, 84, 85) hetzelfde sealingsmateriaal hebben gebruikt, zijn in deze studies veel lagere BPA concentraties gevonden. In de studie van Olea et al (1996) (80) is echter zeer veel materiaal (50mg) gebruikt voor het sealen van een molaar. In de andere studies is gemiddeld 38mg gebruikt voor het sealen van vier molaren (81), of 8mg voor het sealen van een molaar (82), of gemiddeld 40,35mg voor het sealen van gemiddeld zes gebitselementen (84). In één studie is de hoeveelheid sealer die is gebruikt niet vermeld (85). In deze studies zijn ook veel lagere

BPA-concentraties gemeten in het speeksel. Daarnaast is van de studie van Olea et al (1996) (80) niet bekend hoe de sealings zijn geplaatst en of de zuurstofgeïnhibeerde laag is verwijderd na polymerisatie. Hoewel in één andere studie (85) eveneens niet wordt vermeld of de zuurstofgeïnhibeerde laag is verwijderd, is dit voor de andere studies (81, 82, 84) wel het geval. Van de zuurstofgeïnhibeerde laag is bekend dat deze een belangrijke bijdrage levert aan de vrijstelling van vrije monomeren uit kunstharismaterialen en daardoor bijdraagt aan de BPA-concentratie in het speeksel. Een andere verklaring voor de hoge BPA-concentraties die door Olea et al. (1996) (80) zijn gevonden, is volgens diverse auteurs (81-83) een foute interpretatie van de HPLC-analyse, waarbij TEGDMA verward is met BPA.

In de sealinggroep is een duidelijke trend van dalende BPA-concentraties in het speeksel aan te wijzen naarmate de onderzoeken recenter zijn. In 1999 hebben Arenholt-Bindslev et al.(1999) (81) nog een maximale BPA-concentratie in speeksel gevonden van 2,8ppm ($2,8 \cdot 10^3$ ng/ml) na het sealen van vier molaren, terwijl Zimmerman-Downs et al (2010) (85) in 2010 na het sealen van vier molaren een maximale BPA-concentratie van slechts 9,08ng/ml hebben gevonden. Aangezien de kunstharismaterialen en polymerisatietechnieken en -hulpmiddelen doorheen de tijd sterk zijn verbeterd, wordt er een hogere conversiegraad van het kunstharismateriaal bereikt. Dit is mogelijk een verklaring voor de dalende BPA-vrijstelling.

De invloed van de monomeersamenstelling van het kunstharismateriaal is bij de geïnccludeerde studies nauwelijks onderzocht. Fung et al (2000) (82) suggereren dat Bis-GMA en/of Bis-DMA de bron van het vrijgestelde BPA kunnen zijn. Enkel Sasaki et al. (2005) (83) hebben dit onderzocht. Uit dit onderzoek blijkt dat Bis-GMA composieten veel meer BPA vrijstellen dan UDMA-composieten. De UDMA-composieten lekken echter ook BPA.

In de studies van Fung et al (2000) (82) en van Zimmerman-Downs et al. (2010) (85) is ook de BPA-concentratie in het bloed bepaald. Voor en na restauratie is er echter geen BPA in het bloed gedetecteerd. Een verklaring hiervoor kan zijn dat de BPA-concentraties beneden de detectiegrens lagen. Dit kan komen doordat BPA niet in het bloed wordt opgenomen, of doordat BPA wordt gemetaboliseerd.

Joskow et al. (2006) (84), Kang et al. (2011) (86) en Kingman et al. (2010) (16) hebben de BPA-concentraties in urine bepaald. BPA is ook aanwezig in urine, voor en na restauratie. De

verschillen tussen BPA-concentraties in urine voor en na restauratie zijn niet significant. Daarnaast is het verloop van de BPA-concentratie in urine moeilijk te interpreteren en correspondeert het niet met het concentratieverloop van BPA in speeksel.

Verschillende studies hebben ook het effect van diverse maatregelen tijdens de behandeling op de BPA-concentratie in speeksel onderzocht.

Sasaki et al. (2005) (83) hebben geprobeerd om de zuurstofgeïnhibeerde laag te verwijderen door de restauratie direct na plaatsen overvloedig te spoelen met water. Zij hebben geconcludeerd dat deze maatregel zorgt voor een significante reductie van de BPA-vrijstelling direct na het plaatsen van de restauratie. De BPA-concentratie in speeksel daalt hierdoor tot 10ng/ml. Kang et al. (2011) (86) hebben de zuurstofgeïnhibeerde laag verwijderd door spoelen of puimen. Zij hebben geconcludeerd dat het puimen van de restauratie zorgt voor een significante reductie van de BPA-lekkage.

Kingman et al (2012) (16) hebben de invloed van het gebruik van de rubberdam op de BPA-concentraties in speeksel onderzocht. Er zijn echter geen significante verschillen gevonden tussen het wel en niet gebruiken van de rubberdam. De verklaring hiervoor is dat de lekkage van BPA uit de restauraties na het verwijderen van de rubberdam verder gaat.

De gerapporteerde BPA-concentraties in het speeksel zijn zeer verschillend. De BPA-concentraties die gemeten zijn door Olea et al (1996) (80) zijn later nooit bevestigd in andere studies. De overige studies geven echter ook een zeer verschillend beeld van de BPA-concentraties in speeksel na restauratie. Deze concentraties variëren tussen gemiddeld 0,54ng/ml (84) tot gemiddeld 1,43ppm ($1,43 \cdot 10^3$ ng/ml) (81). De maximale concentraties variëren tussen 3,98ng/ml (85) tot 2,8ppm ($2,8 \cdot 10^3$ ng/ml) (81).

Bij de berekening van de maximale BPA-blootstelling uit sealings wordt er uitgegaan van de volgende gegevens:

- Volwassenen slikken 720ml speeksel/dag en kinderen 500ml speeksel/dag door (88, 89).
- Een volwassen individu weegt gemiddeld 70kg en een kind gemiddeld 20kg.
- BPA-concentratie in speeksel van 2,8ppm ($2,8 \mu\text{g/ml}$), gedurende een uur, na het plaatsen van vier sealings op molaren (81).
- Dagelijkse blootstelling aan BPA: $1 \mu\text{g/kg}$ lichaamsgewicht/dag.

- Huidige TDI BPA 50µg/kg lichaamsgewicht/dag, of TDI volgens EFSA BPA 4µg/kg lichaamsgewicht per dag.

Voor een volwassene kan berekend worden dat er 84µg BPA uit de restauratie in het speeksel lekt. Een volwassen individu wordt dan op de dag van behandeling blootgesteld aan 154µg BPA. Volgens de huidige TDI is een blootstelling van 3500µg toegestaan. Volgens de TDI van de EFSA is 280µg toegestaan.

Voor een kind kan berekend worden dat er 58µg BPA uit de restauratie in het speeksel lekt. Een kind wordt op de dag van behandeling blootgesteld aan 78µg BPA. Volgens de huidige TDI is een blootstelling van 1000µg toegestaan. Volgens de TDI van de EFSA is 80µg toegestaan.

De geïncludeerde studies hebben veel methodologische en inhoudelijke tekortkomingen. De onderzoeksgroepen zijn klein. In de meeste onderzoeken staan de in- en exclusiecriteria niet vermeld. De populatie is in de meeste gevallen niet representatief. Ook de detectiegrenzen van de analysetechnieken zijn niet altijd vermeld en de gegevens over de samenstelling van de gebruikte materialen ontbreken regelmatig. Verder wordt de procedure van het plaatsten van het restauratiemateriaal slechts summier of niet weergegeven. Daardoor is bij een aantal studies ook niet duidelijk of de zuurstofgeïnhibeerde laag is verwijderd.

5. CONCLUSIE

Uit de onderzochte literatuur blijkt dat (langdurige) blootstelling aan lage doses BPA (beneden de huidige TDI van 50µg/kg lichaamsgewicht/dag) mogelijk schadelijke effecten heeft op de gezondheid van de mens. Mogelijk zijn zeer lage concentraties op pico- tot nanomolair niveau al schadelijk. Zwangere vrouwen, foetussen, baby's en kinderen kunnen beschouwd worden als risicogroepen. Er is echter nog te weinig evidence beschikbaar om definitieve conclusies te trekken over deze schadelijke effecten en om een nieuwe TDI te bepalen. De EFSA heeft de TDI zekerheidshalve wel verlaagd naar 4µg/kg lichaamsgewicht/dag.

Op basis van in-vitro onderzoek kan worden geconcludeerd dat lekkage van BPA uit tandheelkundige materialen als sealings en vullingen de eerste 24 uur een relevante bijdrage levert aan de blootstelling van het individu aan BPA. Waarschijnlijk lekken er na het plaatsen van de sealing of vulling gedurende langere tijd nog kleine hoeveelheden BPA uit het materiaal.

In-vivo-onderzoek bevestigt dat tandheelkundige materialen als sealings en composietvullingen gedurende het eerste uur na plaatsen relevante hoeveelheden BPA vrijstellen. In de eerste 24 uur na plaatsing kan de TDI van de EFSA bij kinderen zelfs geëvenaard worden. Wanneer meerdere (grote) restauraties worden geplaatst kan de TDI van de EFSA bij kinderen en volwassenen worden overschreden in de eerste 24u na plaatsing. De TDI van 50µg/kg lichaamsgewicht/dag wordt niet overschreden door het plaatsen van sealings of composietvullingen. Een chronische blootstelling aan BPA als gevolg van de aanwezigheid van tandheelkundige materialen in de mond wordt niet bevestigd door het in-vivo onderzoek.

Zolang er geen duidelijkheid is over wat een veilige BPA-dosis is en zolang er geen duidelijkheid is over een chronische lekkage van lage doses BPA uit tandheelkundige kunstharsmaterialen in de mond, moet de blootstelling van de patiënt aan BPA beperkt worden. Voor de beperking van de blootstelling van de patiënt aan BPA uit tandheelkundige kunstharsmaterialen kunnen voor de tandarts de volgende Guidelines worden opgesteld:

Guidelines voor de tandarts om de BPA-blootstelling van de patiënt te beperken:

- Gebruik kunstharsmaterialen die geen of zo weinig mogelijk Bis-GMA monomeren bevatten wanneer de casus dit toelaat en wanneer er uit verschillende producten gekozen kan worden.*
- Streef een maximale conversiegraad van het kunstharsmateriaal na door een adequate plaatsings- en polymerisatieprocedure toe te passen.
- Verwijder de zuurstofgeïnhibeerde laag na het plaatsen van de restauratie.

* Het hoog moleculaire Bis-GMA wordt vaak gebruikt in tandheelkundige kunstharsmaterialen om het materiaal specifieke eigenschappen te geven zoals een hogere viscositeit en een lagere polymerisatiekrimp. Wanneer juist deze eigenschappen van belang zijn, zoals bij vulcomposieten, dan is het vaak niet mogelijk om Bis-GMA-producten te vermijden. Terwijl bij laag viskeuze materialen als flowable composieten en sealingsmaterialen soms wel Bis-GMA-vrije of Bis-GMA-arme alternatieven beschikbaar zijn.

REFERENTIELIJST

1. Staples CA, Dorn PB, Klecka GM, O'Block ST, Harris LR. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*. 1998;36(10):2149-73.
2. Geens T, Aerts D, Berthot C, Bourguignon JP, Goeyens L, Lecomte P, et al. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2012;50(10):3725-40.
3. Geens T, Goeyens L, Covaci A. Are potential sources for human exposure to bisphenol-A overlooked? *International journal of hygiene and environmental health*. 2011;214(5):339-47.
4. Kang JH, Kondo F, Katayama Y. Human exposure to bisphenol A. *Toxicology*. 2006;226(2-3):79-89.
5. Schug TT, Janesick A, Blumberg B, Heindel JJ. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2011;127(3-5):204-15.
6. DiVall SA. The influence of endocrine disruptors on growth and development of children. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*. 2013;20(1):50-5.
7. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, et al. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocrine reviews*. 2009;30(4):293-342.
8. Rettberg JR, Yao J, Brinton RD. Estrogen: a master regulator of bioenergetic systems in the brain and body. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2014;35(1):8-30.
9. Hengstler JG, Foth H, Gebel T, Kramer PJ, Lilienblum W, Schweinfurth H, et al. Critical evaluation of key evidence on the human health hazards of exposure to bisphenol A. *Critical reviews in toxicology*. 2011;41(4):263-91.
10. Kuzbari O, Peterson CM, Franklin MR, Hathaway LB, Johnstone EB, Hammoud AO, et al. Comparative analysis of human CYP3A4 and rat CYP3A1 induction and relevant gene expression by bisphenol A and diethylstilbestrol: Implications for toxicity testing paradigms. *Reproductive Toxicology*. 2013;37:24-30.
11. Erler C, Novak J. Bisphenol a exposure: human risk and health policy. *Journal of pediatric nursing*. 2010;25(5):400-7.
12. Boas M, Feldt-Rasmussen U, Main KM. Thyroid effects of endocrine disrupting chemicals. *Molecular and cellular endocrinology*. 2012;355(2):240-8.
13. Keri RA, Ho SM, Hunt PA, Knudsen KE, Soto AM, Prins GS. An evaluation of evidence for the carcinogenic activity of bisphenol A. *Reproductive toxicology (Elmsford, NY)*. 2007;24(2):240-52.
14. Van Landuyt KL, Nawrot T, Geebelen B, De Munck J, Snauwaert J, Yoshihara K, et al. How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2011;27(8):723-47.
15. Kloukos D, Pandis N, Eliades T. In vivo bisphenol-A release from dental pit and fissure sealants: A systematic review. *Journal of Dentistry*. 2013;41(8):659-67.
16. Kingman A, Hyman J, Masten SA, Jayaram B, Smith C, Eichmiller F, et al. Bisphenol A and other compounds in human saliva and urine associated with the placement of composite restorations. *Journal of the American Dental Association*. 2012;143(12):1292-302.
17. Pulgar R, Olea-Serrano MF, Novillo-Fertrell A, Rivas A, Pazos P, Pedraza V, et al. Determination of bisphenol A and related aromatic compounds released from Bis-GMA-based composites and sealants by high performance liquid chromatography. *Environmental health perspectives*. 2000;108(1):21-7.
18. Mazzaoui SA, Burrow MF, Tyas MJ, Rooney FR, Capon RJ. Long-term quantification of the release of monomers from dental resin composites and a resin-modified glass ionomer cement. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2002;63(3):299-305.
19. Dutch Cochrane Collaboration. Available from: <http://dcc.cochrane.org/>.

20. PubChem Compound Database ; CID=6623 [Internet]. National Center for Biotechnology Information. 2014 [cited 17/04/2015]. Available from: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6623>.
21. Huang YQ, Wong CK, Zheng JS, Bouwman H, Barra R, Wahlstrom B, et al. Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environment international*. 2012;42:91-9.
22. Beronius A, Ruden C, Hakansson H, Hanberg A. Risk to all or none? A comparative analysis of controversies in the health risk assessment of Bisphenol A. *Reproductive toxicology* (Elmsford, NY). 2010;29(2):132-46.
23. Jancova P, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Phase II drug metabolizing enzymes. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*. 2010;154(2):103-16.
24. Volkel W, Colnot T, Csanady GA, Filser JG, Dekant W. Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. *Chemical research in toxicology*. 2002;15(10):1281-7.
25. Atkinson JC, Diamond F, Eichmiller F, Selwitz R, Jones G. Stability of bisphenol A, triethylene-glycol dimethacrylate, and bisphenol A dimethacrylate in whole saliva. *Dental Materials*. 2002;18(2):128-35.
26. U.S. Environmental Protection Agency: Endocrine Disruption: State of the Science Non-Monotonic Dose Response Paper 2015. Available from: <http://epa.gov/ncct/edr/non-monotonic.html>.
27. World Health Organization (WHO) :BISPHENOL A (BPA) Current state of knowledge and future actions by WHO and FAO. 2009.
28. U.S. Environmental Protection Agency (EPA): The 4 Step Risk Assessment Process 2015. Available from: <http://www.epa.gov/risk/dose-response.htm>.
29. U.S. Environmental Protection Agency (EPA): Reference Dose (RfD): Description and Use in Health Risk Assessments 1993. Available from: <http://www.epa.gov/iris/rfd.htm>.
30. Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Sloan CS, Castillo NP, Veselica MM, et al. Two-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD-1 (Swiss) mice. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2008;104(2):362-84.
31. Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Thomas BF, Keimowitz AR, Brine DR, et al. Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2002;68(1):121-46.
32. vom Saal FS, Hughes C. An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. *Environmental health perspectives*. 2005;113(8):926-33.
33. Wozniak AL, Bulayeva NN, Watson CS. Xenoestrogens at picomolar to nanomolar concentrations trigger membrane estrogen receptor-alpha-mediated Ca²⁺ fluxes and prolactin release in GH3/B6 pituitary tumor cells. *Environmental health perspectives*. 2005;113(4):431-9.
34. Welshons WV, Nagel SC, vom Saal FS. Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology*. 2006;147(6 Suppl):S56-69.
35. Hunt PA, Susiarjo M, Rubio C, Hassold TJ. The bisphenol A experience: a primer for the analysis of environmental effects on mammalian reproduction. *Biology of reproduction*. 2009;81(5):807-13.
36. Goodman JE, McConnell EE, Sipes IG, Witorsch RJ, Slayton TM, Yu CJ, et al. An updated weight of the evidence evaluation of reproductive and developmental effects of low doses of bisphenol A. *Critical reviews in toxicology*. 2006;36(5):387-457.
37. Arnich N, Canivenc-Lavier MC, Kolf-Clauw M, Coffigny H, Cravedi JP, Grob K, et al. Conclusions of the French Food Safety Agency on the toxicity of bisphenol A. *International journal of hygiene and environmental health*. 2011;214(3):271-5.
38. U.S. Food and Drug Administration: Updated Review of Literature and Data on Bisphenol A (CAS RN 80-05-7) 2014. 06-06-2014:[Available from:

<http://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/UCM424011.pdf>.

39. U.S. Food and Drug Administration: 2014 Updated safety assessment of Bisphenol A (BPA) for use in food contact applications. 2014. 17-06-2014:[Available from: <http://www.fda.gov/downloads/NewsEvents/PublicHealthFocus/UCM424266.pdf>.
40. European Food Safety Authority (EFSA): Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs: PART II - Toxicological assessment and risk characterisation: EFSA; 2015. Available from: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/3978part2.pdf>.
41. European Food Safety Authority (EFSA): No consumer health risk from bisphenol A exposure. 2015.
42. Braun JM, Hauser R. Bisphenol A and children's health. *Current opinion in pediatrics*. 2011;23(2):233-9.
43. Vom Saal FS, Nagel SC, Coe BL, Angle BM, Taylor JA. The estrogenic endocrine disrupting chemical bisphenol A (BPA) and obesity. *Molecular and cellular endocrinology*. 2012;354(1-2):74-84.
44. Thayer KA, Heindel JJ, Bucher JR, Gallo MA. Role of environmental chemicals in diabetes and obesity: a National Toxicology Program workshop review. *Environmental health perspectives*. 2012;120(6):779-89.
45. Haighton LA, Hlywka JJ, Doull J, Kroes R, Lynch BS, Munro IC. An evaluation of the possible carcinogenicity of bisphenol A to humans. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*. 2002;35(2 Pt 1):238-54.
46. Maffini MV, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM. Endocrine disruptors and reproductive health: the case of bisphenol-A. *Molecular and cellular endocrinology*. 2006;254-255:179-86.
47. Soto AM, Vandenberg LN, Maffini MV, Sonnenschein C. Does breast cancer start in the womb? *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2008;102(2):125-33.
48. Fernandez SV, Russo J. Estrogen and xenoestrogens in breast cancer. *Toxicologic pathology*. 2010;38(1):110-22.
49. Jenkins S, Betancourt AM, Wang J, Lamartiniere CA. Endocrine-active chemicals in mammary cancer causation and prevention. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2012;129(3-5):191-200.
50. Kundakovic M, Champagne FA. Epigenetic perspective on the developmental effects of bisphenol A. *Brain, behavior, and immunity*. 2011;25(6):1084-93.
51. Pearce EN, Braverman LE. Environmental pollutants and the thyroid. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2009;23(6):801-13.
52. Shelnutt S, Kind J, Allaben W. Bisphenol A: Update on newly developed data and how they address NTP's 2008 finding of "Some Concern". *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2013;57:284-95.
53. Golub MS, Wu KL, Kaufman FL, Li LH, Moran-Messen F, Zeise L, et al. Bisphenol A: developmental toxicity from early prenatal exposure. *Birth defects research Part B, Developmental and reproductive toxicology*. 2010;89(6):441-66.
54. De Moor RGJ. *Restauratieve Tandheelkunde: Syllabus ten behoeve van de studenten 3e Bachelor Tandarts Universiteit Gent. Deel III*2012.
55. Keulemans F. *Restauratieve Tandheelkunde I: Materiaalwetenschappen*2012.
56. McCabe JF, Walls AWG. *Applied Dental Materials*. Ninth Edition: Blackwell Munksgaard; 2008. p. 195-244.
57. Noda M, Komatsu H, Sano H. HPLC analysis of dental resin composites components. *J Biomed Mater Res*. 1999;47(3):374-8.
58. Watanabe M, Hase T, Imai Y. Change in the bisphenol A content in a polycarbonate orthodontic bracket and its leaching characteristics in water. *Dental materials journal*. 2001;20(4):353-8.

59. Zimmerli B, Strub M, Jeger F, Stadler O, Lussi A. Composite materials: composition, properties and clinical applications. A literature review. *Schweizer Monatsschrift für Zahnmedizin = Revue mensuelle suisse d'odonto-stomatologie = Rivista mensile svizzera di odontologia e stomatologia / SSO*. 2010;120(11):972-86.
60. Willems G, Lambrechts P, Braem M, Celis JP, Vanherle G. A classification of dental composites according to their morphological and mechanical characteristics. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 1992;8(5):310-9.
61. Durner J, Obermaier J, Draenert M, Ilie N. Correlation of the degree of conversion with the amount of elutable substances in nano-hybrid dental composites. *Dental Materials*. 2012;28(11):46-53.
62. Polydorou O, König A, Hellwig E, Kummerer K. Long-term release of monomers from modern dental-composite materials. *European journal of oral sciences*. 2009;117(1):68-75.
63. Polydorou O, Trittler R, Hellwig E, Kummerer K. Elution of monomers from two conventional dental composite materials. *Dental Materials*. 2007;23(12):1535-41.
64. Imai Y, Watanabe M, Ohsaki A. Analysis of major components and bisphenol A in commercial Bis-GMA and Bis-GMA-based resins using high performance liquid chromatography. *Dental materials journal*. 2000;19(3):263-9.
65. Sideridou ID, Achilias DS. Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. *Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials*. 2005;74B(1):617-26.
66. Carmichael AJ, Gibson JJ, Walls AW. Allergic contact dermatitis to bisphenol-A-glycidyl dimethacrylate (BIS-GMA) dental resin associated with sensitivity to epoxy resin. *British dental journal*. 1997;183(8):297-8.
67. Munksgaard EC, Freund M. Enzymatic hydrolysis of (di) methacrylates and their polymers. *Scandinavian journal of dental research*. 1990;98(3):261-7.
68. Larsen IB, Munksgaard EC. Effect of human saliva on surface degradation of composite resins. *Scandinavian journal of dental research*. 1991;99(3):254-61.
69. Koin PJ, Kilislioglu A, Zhou M, Drummond JL, Hanley L. Analysis of the degradation of a model dental composite. *Journal of dental research*. 2008;87(7):661-5.
70. Polydorou O, Hammad M, König A, Hellwig E, Kummerer K. Release of monomers from different core build-up materials. *Dental Materials*. 2009;25(9):1090-5.
71. Ortengren U, Wellendorf H, Karlsson S, Ruyter IE. Water sorption and solubility of dental composites and identification of monomers released in an aqueous environment. *Journal of oral rehabilitation*. 2001;28(12):1106-15.
72. Hamid A, Hume WR. A study of component release from resin pit and fissure sealants in vitro. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 1997;13(2):98-102.
73. Ferracane JL. Elution of leachable components from composites. *Journal of oral rehabilitation*. 1994;21(4):441-52.
74. Polydorou O, Beiter J, König A, Hellwig E, Kummerer K. Effect of bleaching on the elution of monomers from modern dental composite materials. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2009;25(2):254-60.
75. Altintas SH, Usumez A. Evaluation of monomer leaching from a dual cured resin cement. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials*. 2008;86(2):523-9.
76. Tanaka K, Taira M, Shintani H, Wakasa K, Yamaki M. Residual monomers (TEGDMA and Bis-GMA) of a set visible-light-cured dental composite resin when immersed in water. *Journal of oral rehabilitation*. 1991;18(4):353-62.
77. Komurcuoglu E, Olmez S, Vural N. Evaluation of residual monomer elimination methods in three different fissure sealants in vitro. *Journal of oral rehabilitation*. 2005;32(2):116-21.
78. Imai Y, Komabayashi T. Elution of bisphenol A from composite resin: a model experiment. *Dental materials journal*. 2000;19(2):133-8.

79. Sevkusic M, Schuster L, Rothmund L, Dettinger K, Maier M, Hickel R, et al. The elution and breakdown behavior of constituents from various light-cured composites. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2014.
80. Olea N, Pulgar R, Perez P, OleaSerrano F, Rivas A, NovilloFertrell A, et al. Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. *Environmental health perspectives*. 1996;104(3):298-305.
81. Arenholt-Bindslev D, Breinholt V, Preiss A, Schmalz G. Time-related bisphenol-A content and estrogenic activity in saliva samples collected in relation to placement of fissure sealants. *Clinical oral investigations*. 1999;3(3):120-5.
82. Fung EY, Ewoldsen NO, St Germain HA, Jr., Marx DB, Miaw CL, Siew C, et al. Pharmacokinetics of bisphenol A released from a dental sealant. *Journal of the American Dental Association (1939)*. 2000;131(1):51-8.
83. Sasaki N, Okuda K, Kato T, Kakishima H, Okuma H, Abe K, et al. Salivary bisphenol-A levels detected by ELISA after restoration with composite resin. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*. 2005;16(4):297-300.
84. Joskow R, Barr DB, Barr JR, Calafat AM, Needham LL, Rubin C. Exposure to bisphenol A from bis-glycidyl dimethacrylate-based dental sealants. *Journal of the American Dental Association (1939)*. 2006;137(3):353-62.
85. Zimmerman-Downs JM, Shuman D, Stull SC, Ratzlaff RE. Bisphenol A blood and saliva levels prior to and after dental sealant placement in adults. *Journal of dental hygiene : JDH / American Dental Hygienists' Association*. 2010;84(3):145-50.
86. Kang YG, Kim JY, Kim J, Won PJ, Nam JH. Release of bisphenol A from resin composite used to bond orthodontic lingual retainers. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics : official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics*. 2011;140(6):779-89.
87. Han DH, Kim MJ, Jun EJ, Kim JB. Salivary Bisphenol-A Levels due to Dental Sealant/Resin: A Case-Control Study in Korean Children. *Journal of Korean Medical Science*. 2012;27(9):1098-104.
88. Rudney JD, Ji Z, Larson CJ. The prediction of saliva swallowing frequency in humans from estimates of salivary flow rate and the volume of saliva swallowed. *Archives of oral biology*. 1995;40(6):507-12.
89. Watanabe S, Ohnishi M, Imai K, Kawano E, Igarashi S. Estimation of the total saliva volume produced per day in five-year-old children. *Archives of oral biology*. 1995;40(8):781-2.