

# Utjecaj bisfenola A na razvoj molarno-incizivne hipomineralizacije

Aneta Benković<sup>1</sup>

Matea Blažević<sup>2</sup>

prof. dr. sc. Kristina Goršeta<sup>3</sup>

[1] studentica pete godine, Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet

[2] studentica treće godine, Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet

[3] Zavod za dječju i preventivnu stomatologiju, Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet

## SAŽETAK

Bisfenol A (BPA) organski je spoj koji se koristi u proizvodnji polikarboksilatne plastike i epoksi smola za izradu spremnika prehrambenih proizvoda, napitaka, bočica za dojenčad, prevlake konzervi kao konzervans za hranu i drugo. Unesen u tijelo, djeluje kao endokrini disruptor. Proizvodnja BPA posljednjih je godina porasla za 10% godišnje proizvodeći više od ukupno 4 milijuna tona BPA na svijetu. Posljednjih desetak godina drastično se povećala i prevalencija molarno-incizivne hipomineralizacije (MIH-a) kod djece. Sama etiologija MIH-a je nerazjašnjena, no smatra se da je višestruka, od kojih je jedan faktor bisfenol A. U laboratorijskim istraživanjima dokazano je da bisfenol A direktno utječe na hipomineralizaciju sjekutića štakora *in vivo* i *in vitro*. U rezultatima se pokazalo da kombinacije endokrinih disruptora ne utječu toliko štetno na mineralizaciju cakline kao sam BPA i da se hipomineralizacija može razlikovati s obzirom na kombinacije endokrinih disruptora. Nadalje, istraživao se učinak estrogena na hipomineralizaciju s obzirom da BPA ima visoki afinitet prema estrogenim receptorima. Rezultati su pokazali da su dentalne epitelne stanice mete BPA i estrogenog djelovanja koji utječu na morfogenezu zuba i ekspresiju gena povezanih s odontogenezom. Također se dokazalo da je formiranje cakline najosjetljivije na djelovanje bisfenola A u određenom vremenskom periodu, od zadnjeg tromjesečja trudnoće do 5. godine života djeteta. Zbog toga stomatolog mora dobro poznavati sastav materijala koje koristi u svakodnevnom radu. Dokazano je da je najveća koncentracija BPA u pacijentovoj slini neposredno nakon izrade ispuna ili pečata, nakon čega se postupno snižava. Ipak, ne smije se isključiti kronična izloženost BPA u pacijenata s dentalnim ispunima, a osobito trudnica i djece ispod 5 godina. Zaključno, potrebno je provesti dodatna istraživanja o štetnosti bisfenola A i kao stomatolog djelovati preventivno u rizičnim skupinama za razvoj MIH-a.

**Ključne riječi:** bisfenol A, molarno-incizivna hipomineralizacija, amelogeneza, laboratorijska istraživanja, stomatološki materijali, MIH, odontogeneza

Posljednjih desetak godina provode se razna istraživanja diljem svijeta o utjecaju bisfenola A (BPA) na čovjekovo zdravlje. Proizvodnja BPA posljednjih je godina porasla za 10% godišnje proizvodeći više od ukupno 4 milijuna tona BPA na svijetu. Dokazano je da je kod više od 95% populacije pronađen BPA u tijelu, unesen uglavnom iz hrane i plastičnih pakiranja (1). Također, posljednjih desetak godina drastično se

povećava prevalencija molarno-incizivne hipomineralizacije (MIH) kod djece. Sama etiologija MIH-a je nerazjašnjena, no smatra se da je višestruka. Istraživanja su pokazala da na razvoj MIH-a utječu određeni faktori: hipoksija, hipokalcemija, kronična bolest u ranoj dobi (visoka tjelesna temperatura), određeni antibiotici te toksini od kojih je posebno istaknut BPA (2).

## Bisfenol A

Bisfenol A organski je spoj koji se koristi u proizvodnji polikarboksilatne plastike i epoksi smola. Polikarboksilatne plastike koriste se za izradu spremnika prehrambenih proizvoda, napitaka, bočica za dojenčad, jeđeći pribor te ostale spremnike za čuvanje hrane. Epoksi smole koriste se kod prevlaka konzervi kao konzervans za hranu i sprječavanje botulizma (3). Ulaskom bisfenola A u tijelo dolazi do promjene aktivnosti endokrinog sustava te negativnog učinka na razvojne, reproduktivne, neurološke i imunološke procese u ljudi i životinja. Zbog toga bisfenol A spada u grupu endokrinih disruptora, djelujući agonistički na estrogene receptore i antagonistički na androgene receptore (4). Sam bisfenol A ulazi u tijelo kroz gastrointestinalni trakt ingestijom, direktnom apsorpcijom sublingvalno, inhalacijom kroz pluća i difuzijom kroz dentinske kanaliće u pulpu (4,5). Bisfenol A biotransformira se u jetri u neaktivni oblik i izlučuje urinom (5). Osim utjecaja na razvojne, reproduktivne, neurološke i imunološke procese dokazano je da ima utjecaj i na mineralizaciju zubne cakline. Testiranjem na štakorima, ekspozicijom gestacijskih štakorica u mladunčadi razvila se promjena na caklini opisom i izgledom izrazito slična molarno-incizivnoj hipomineralizaciji (1).

## Molarno-incizivna hipomineralizacija

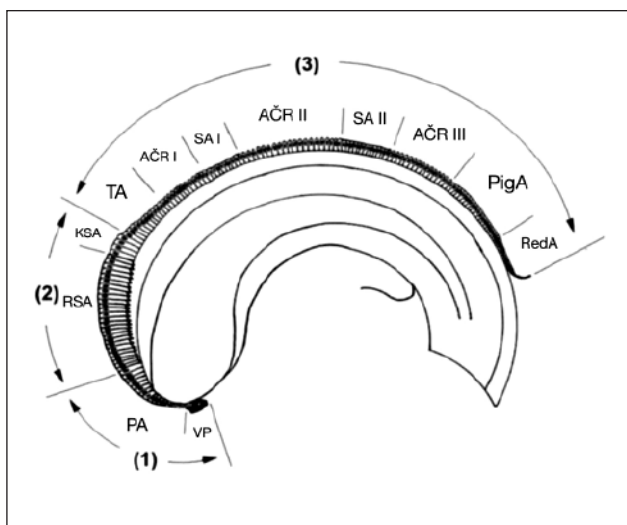
Molarno-incizivna hipomineralizacija (MIH) razvojni je defekt hipomineralizacije cakline koji zahvaća mliječnu i trajnu denticiju, najčešće trajne prve molare i trajne prve sjekutiće. Etiologija MIH-a nerazjašnjena je, ali smatra se da je višestruka. Pokazalo se da na utjecaj razvoja MIH-a sudjeluju određeni faktori kao što su: hipoksija, hipokalcemija, kronična bolest u ranoj dobi (visoka tjelesna temperatura), određeni antibiotici te toksini od kojih je posebno istaknut BPA (2). Uz kliničku sliku MIH-a vežu se različite promjene na zubnoj caklini: opakni defekti na okluzalnoj i bukalnoj površini zuba, različitih veličina i uzoraka, kremasto bijele ili žuto-smeđe boje (Slika 1). Takvi zubi imaju povećanu preosjetljivost na podražaje, netipične restauracije, smanjenu učinkovitost djelovanja anestezije i u konačnici brzi gubitak trajnog zuba (6). Sami defekti nastaju zbog raznih egzogenih i endogenih faktora na sam zubni zameetak u fazi formiranja cakline – amelogeneze (2).



Slika 1. Klinički prikaz molarno-incizivne hipomineralizacije, preuzeto od prof. dr. sc. Goršeta

## Amelogeneza

Amelogeneza je proces stvaranja zubne cakline koji se sastoji od nekoliko ključnih stadija: presekretornog, sekretornog, prijelaznog, maturacijskog i postmaturacijskog stadija koji je popraćen apoptozom ameloblasta (Slika 2). Cjelokupan razvoj zuba pa tako i diferencijacija ameloblasta procesom amelogeneze događa se zahvaljujući epitelno-mezenhimalnoj interakciji (7). Zubnu caklinu proizvode ameloblasti koji izlučuju proteine caklinskog matriksa (amelogenin, enamelin, ameloblastin, amelotin i tuftelin) i proteaze kalikrein (KLK4) i enamelizin (MMP20) koje razgrađuju caklinski matriks omogućujući kasniji rast mineralnih kristala. KLK4 i enamelin identificirani su kao dva glavna ciljna gena BPA te je otkriveno da promjene u njihovoj ekspresiji dovode do hipomineralizacije cakline (8). U sekretornom stadiju ameloblasti odlažu prvi sloj matriksa prizmatne cakline na caklinsko-dentinsko spojište (CDS). Sekretorni stadij, s istodobnim odlaganjem organske i mineralne tvari, traje dok se ne odloži caklinski matriks u punoj debljini. Nakon odlaganja caklinskog matriksa u punoj debljini, u prijelaznom stadiju ameloblasti se skraćuju, 50% ih odumire, a preostali su fagocitirani. Maturacijski stadij (stadij zrenja cakline) u normalnim je uvjetima 2-3 puta dulji od sekrecijske faze, a prilikom njega se resorbira voda i organske tvari cakline (7). U prisutnosti BPA povećava se duljina sekretornog stadija, što dovodi do ubrzanja procesa diferencijacije i posljedično ostavlja manje vremena za fazu sazrijevanja do potpune mineralizacije matriksa cakline. Na hipomineraliziranoj caklini



Slika 2. Dijagram prikazuje regije ameloblasta koje su bazirane na različitim stadijima. (1) presekretorni stadij, koji uključuje vratnu petlju (VP) i preameloblaste (PA). (2) Sekretorni stadij: rani sekretorni ameloblasti (RSA) i kasni sekretorni ameloblasti (KSA). (3) Maturacijski stadij: tranzicijski ameloblasti (TA), ameloblasti četkastog ruba (AČR), sekretorni ameloblasti (SA), ameloblasti u pigmentacijskoj fazi (PigA) i ameloblasti u reduciranom caklinskom epitelu (RedA). Zbog razlika u imunopozitivnoj reakciji, pojedine regije su dalje podijeljene, rani sekretorni ameloblasti na rane sekretorne I i rane sekretorne II, ameloblasti četkastog ruba na AČR-I i AČR-II i pigmentacijska faza u pigmentacijsku fazu I i II., prilagođeno prema Ferrer i sur. (22)

očituju se prethodno opisana bijela zamućenja (8). Abnormalno zadržavanje proteina, vanjskih ili unutarnjih, kao što je serumski albumin, također dovodi do erupcije hipomineralizirane cakline. Nakon što je amelogeneza dovršena, ameloblasti i stanice vanjskog caklinskog epitela degeneriraju i konačno se gube abrazijom nakon nicanja zuba. Kao posljedica toga, defekti cakline nepovratni su i daju trajni zapis o svim poremećajima koji se javljaju tijekom razvoja cakline. U laboratorijskim ispitivanjima sjekutići glodavaca pružaju pouzdanu evidenciju o tome kako izgleda učinak bisfenola A na amelogenezu i budući razvoj zuba (9).

### Laboratorijska istraživanja

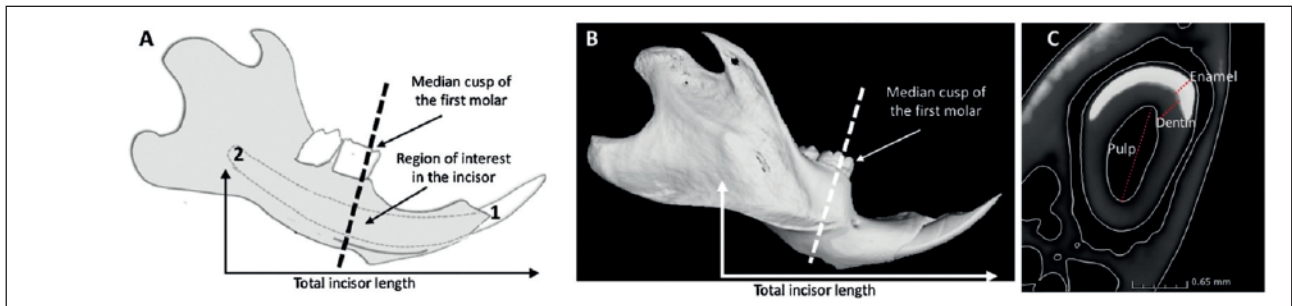
S obzirom na to da se bisfenol A može pronaći svugdje oko nas; u hrani, pićima i zraku, teško je izolirati ispitanike i dokazati na ljudima direktan utjecaj bisfenola A na pojavnost MIH-a. Zbog toga se u laboratorijskim istraživanjima provode *in vivo* istraživanja na životinjama (školjke i štakori) i *in vitro* kultivacijom HAT-7 stanica štakora. *In vivo* istraživanja provode se pod strogo kontroliranim uvjetima: kavezi, bočice za vodu i posude za hranu ne smiju biti izrađene od

polikarboksilatne plastike, hrana se dekontaminira, a voda filtrira kako ne bi došlo do dodatne kontaminacije bisfenolom A iz okoliša (1,8,10).

Fangfang Liu i sur. su u provedenom istraživanju o etiologiji MIH-a koristili zebaste školjke. Dokazano je da njihovi oklopi prolaze kroz sličan proces mineralizacije kao i sama caklina. Koristili su 4 skupine školjaka od kojih je svaka bila eksponirana jednom od navedenih tvari: eritromicin – nedokazani disruptor mineralizacije cakline, BPA – nedokazani disruptor mineralizacije cakline, doksiciklin – kontrola koja ne utječe na mineralizaciju i kadmij sulfat hidrat (kadmijum) – poznat po inhibiciji mineralizacije kod školjaka i kod cakline. Nakon 2 tjedna oklopi zebastih školjaka analizirali su se s pomoću fluorescencije. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da BPA i kadmij djeluju toksično na zebaste školjke i interferiraju s mineralizacijom oklopa školjke, a potencijalno i cakline (2).

Budući da bisfenol A djeluje kao endokrini disruptor, Jedeon K. i sur. su uspoređivali djelovanje endokrinih disruptora na mineralizaciju cakline kod štakora. Koristili su kombinacije triju endokrinih disruptora: BPA, genistein (G) i vinklozolin (V). Gestacijske štakorice svaki su dan izlagali dozama endokrinih disruptora koje čovjek dnevno unese u tijelo (1 mg/kg/day G, 10 mg/kg/day V, 5 mg/kg/day BPA) te samu mladunčad u periodu od 30 dana nakon poroda. Nastavljajući istraživanje *in vitro* uzgojili su HAT-7 ameloblastične stanice te su ih izložili endokrinih disruptorima. Rezultati su pokazali prisutnost direktnog utjecaja BPA na povećanje retencije enamelina i smanjenu KLK4 ekspresiju u procesu amelogeneze. Provedenim istraživanjem dokazano je da kombinacije endokrinih disruptora ne utječu toliko štetno na samu mineralizaciju cakline kao sam BPA. Iz dobivenih rezultata je razvidno da se hipomineralizacija može razlikovati s obzirom na kombinacije endokrinih disruptora (1).

Nadalje, postoje dokazi da estrogen, važan stanični hormon koji sudjeluje u razvoju i održavanju tjelesne homeostaze, regulira ekspresiju nekoliko gena u različitim stanicama, uključujući dentalne stanice. Estrogen postiže svoje djelovanje vezanjem za stanične receptore, receptore  $\alpha$  i  $\beta$  (ER $\alpha$  i ER $\beta$ ) čime aktivira gene osjetljive na estrogen i tako stimulira ER-pozitivne stanične linije (10). Dosadašnja istraživanja

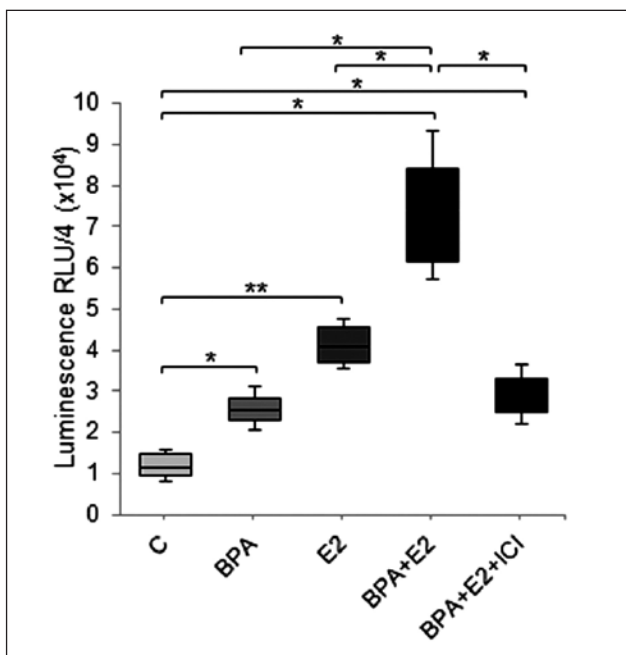


Slika 3. Mikro CT mjerenja. (A) Shematski prikaz koronarne ravnine korištene za mjerenja. (B) Bočni prikaz mandibule u mikro CT-u s koronarnom ravninom. (C) Morfometrijske analize izvedene u koronarnoj mandibularnoj ravnini, preuzeto iz članka autora KÜchler i sur. (10)

pokazala su ekspresiju ER-a u mnogim stanicama zuba. S obzirom na to da BPA sadrži visoki afinitet prema estrogenim receptorima potrebno je proučiti samo djelovanje estrogena na mineralizaciju zuba.

Ohshima i sur. su dokazali prolaznu ekspresiju heat shock proteina (Hsp25) tijekom amelogeneze u štakora, sugerirajući da je ovaj protein uključen u diferencijaciju ameloblasta. Smatrali su da Hsp25 igra ulogu u formiranju četkastog ruba u ameloblastima s naborima (11). Pretpostavlja se da postoji veza između Hsp25 i estrogena jer je Hsp25 izvorno otkriven kao protein reguliran estrogenom (12). Zbog toga se smatra da je estrogen uključen u diferencijaciju ameloblasta. Uz njih, Jukic i sur. izvijestili su da je nekoliko odontoblasta u uzorku od ljudi pokazalo ER imunoreakciju (1,0 – 1,3%), što ukazuje na to da su stanice

koje formiraju zube meta za djelovanje estrogena (13). Postoje brojni dokazi prema kojima estrogen regulira ekspresiju nekoliko gena, uključujući TGF-β (Transforming growth factor-beta), BMP4 (Bone morphogenetic protein 4), SMAD6 (Suppressor of Mothers against Decapentaplegic 6) i RUNX2 (Runt-related transcription factor 2) (14, 15, 16). S obzirom na dosad nepoznat utjecaj estrogena na razvoj struktura zuba učinjeno je istraživanje kojim se htjelo doznati kako nedostatak estrogena tijekom razvoja zuba utječe na njihovu morfologiju. Prilikom istraživanja korištene su štakorice jednako podijeljene u OVX (nedostatak estrogena) i Sham (kontrolnu) grupu. U OVX skupini štakorima je učinjena ovarijskomotomija, dok je placebo operacija (Sham operacija) provedena u kontrolnoj skupini. Dimenzije zuba u štakora i zubne strukture (caklina, dentin i zubna pulpa) mjerene su kompjutoriziranom tomografijom s pomoću dobivenih CT snimaka (Slika 4). Kao model za procjenu, korišteni su donji sjekutići štakora koji kontinuirano rastu i time su pogodni za proučavanje svih razvojnih faza zubnih struktura. Nakon obavljenih ispitivanja, prilikom analize  $\mu$ CT-a, debljina cakline i dentina bila je značajno veća u kontrolnoj skupini u usporedbi s OVX skupinom. Suprotno tome, dimenzije pulpe bile su veće u OVX skupini (10). Veće dimenzije pulpe u OVX skupini posljedica su smanjenja cakline i dentina. Smanjene dimenzije dentina u OVX skupini posljedica su postojanja estrogenskih receptora između predentina i sloja odontoblasta i u pulpnim krvnim žilama koje su Hietala i sur. identificirali u ljudskom trećem molaru prilikom istraživanja (17). Isto tako, promatrana je ekspresija SMAD6 gena u odontogenoj regiji čime je primijećena veća razina SMAD6 u OVX skupini (10). SMAD6 iznimno je važan jer je izražen u svim fazama



Slika 4. Utjecaj kombinacija BPA i estrogena (E2) na proliferaciju ameloblasta, preuzeto iz članka autora Jedeon i sur. (8)

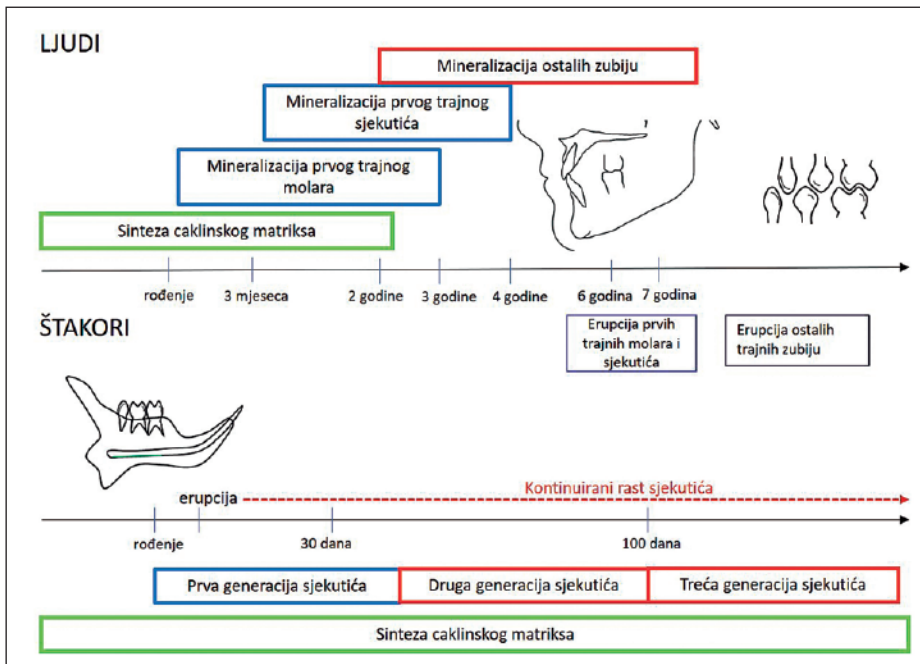
morfogeneze zuba, a prisutan je i u dentalnoj lamini u početnoj fazi odontogeneze (18). Zaključno, ovo istraživanje dokazalo je da nedostatak estrogena utječe na morfogenezu zuba i ekspresiju gena povezanih s odontogenezom.

Danas je već dobro poznat i dokazan utjecaj estrogena na izgled zuba i njihov razvoj, točnije odontogenezu. Postavlja se pitanje utječu li estrogen i bisfenol A na proliferaciju ameloblasta i na koji način. U jednom istraživanju korišteno je 16 tretiranih štakora i 16 štakora za kontrolnu skupinu. U razdoblju od prvog dana gestacijski (E1) do dvadeset prvog dana postnatalno (P21) tretiranim štakorima oralno je davan BPA, a štakorima u kontrolnoj grupi samo kukuruzno ulje. Naposljedku su uspavani 30. dana postnatalno (P30). Nakon toga sjekutići su bili ekstrahirani i promatrani. U kontrolnoj skupini donji sjekutići bili su homogeno žute do narančaste boje, dok su kod sjekutića tretiranih s BPA bile vidljive bijele opakne mrlje, bilo simetrično ili asimetrično. Isto tako, mjerene su duljine sjekutića i sekrecijske faze ameloblasta. Sekrecijska faza u skupini tretiranih štakora bila je duža nego u kontrolnoj grupi. Ipak, nije bilo značajnih razlika između dvije skupine u duljini mandibularnih sjekutića. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da BPA povećava proliferaciju ameloblasta *in vivo* i *in vitro*, a također je uočeno da BPA prvenstveno utječe na amelogenezu kod štakora mužjaka. Razlog tomu jesu snižene razine estrogena u mužjaka što uzrokuje veće varijacije u estrogenskoj aktivnosti zbog BPA pa se time ostvaruje jači učinak. Nastavljajući istraživanje, HAT-7 stanice tretirane su samostalno s BPA ili samo s E2 ili u kombinaciji. Proliferacija ameloblasta bila je najveća u uzorcima tretiranim kombinacijom BPA i E2 i niža u uzorcima tretiranim samo s BPA ili E2 (Slika 5). Na slici 4 je također vidljivo da korištenjem estrogenskog antagonista ICI 182,780 dolazi do smanjenja proliferacije ameloblasta, no vrijednosti su i dalje veće od onih u kontrolnoj skupini. Ovime je potvrđeno da su dentalne epitelne stanice mete estrogenskog i BPA djelovanja (8).

Formiranje cakline najosjetljivije je na djelovanje bisfenola A u određenom periodu što je dokazano u istraživanju koje su proveli *Jedeon K. i sur.* U istraživanju su štakori bili izloženi bisfenolu A od prvog dana gestacije sve do 30 dana života ili 100 dana života. Uspoređujući eruptiranu caklinu uočeno je da se kod cakline koja je formirana u periodu do 30 dana života uočavaju područja hipomineralizacije slične kliničkoj slici MIH-a. Kod štakora koji su izloženi do 100 dana života, formirana caklina kroz period od 30 dana do 100 dana nije sadržavala znakove hipomineralizacije sjekutića što potvrđuje da je amelogeneza osjetljiva u određenom periodu života (Slika 6). Proučavajući eliminaciju bisfenola A kod štakora i kod gestacijskih štakorica, uočilo se da kod gestacijskih štakorica postoji niža koncentracija Mrp2-proteina koji pomaže u ekskreciji konjugiranog BPA u žuč. Niža koncentracija Mrp2 dovodi do povišenja konjugiranog BPA u krvotoku koji opskrbljuje fetus. Budući da sam fetus i novorođenče nemaju u potpunosti razvijene jetrene enzime koji pripomažu u uklanjanju BPA iz tijela, povišena koncentracija BPA djeluje toksično povisujući ekspresiju enamelina i snižavajući KLK4 ekspresiju. Sama promjena organske strukture matriksa i ekspresije proteaza dovodi do trajne hipomineralizacije cakline. MIH se tako može koristiti kao biomarker za ekspoziciju tijela bisfenolu A (9). Kod ljudi, formiranje cakline



Slika 5. usporedba sjekutića štakora od 30 dana i 100 dana ekspozicije BPA sa sjekutićima pacijenata zahvaćenih MIH-om, preuzeto iz članka autora *Jedeon i sur.* (9)



Slika 6. Razdoblje najveće osjetljivosti ameloblasta na BPA kod ljudi, prilagođeno prema Jedeon i sur. (shemu nacrtala A. Benković) (5)

najosjetljivije je na djelovanje BPA od zadnjeg tromjesečja trudnoće do 5. godine života (Slika 7). MIH-om su najčešće zahvaćeni prvi molari i središnji sjekutići kod kojih se odvija mineralizacija točno u periodu kada je formiranje cakline najosjetljivije. Kada zub koji je zahvaćen MIH-om eruptira i postane funkcionalan caklina se puno brže troši i dolazi do lomova i povećanog rizika za razvoj karijesa. Saniranjem karijesa stomatolozi koriste kompozitne materijale za ispune koji u sebi sadrže BPA monomere. Samim time se povisuje izloženost BPA česticama i stvara se začarani krug izlaganju pacijenta jednim od faktora koji je i sam prouzročio nastanak MIH-a (5).

### Bisfenol A u stomatologiji

U stomatološkoj praksi bisfenol A je kao monomer važna komponenta restaurativnih kompozitnih materijala i sredstava za pečaćenje koji se upotrebljavaju u svakodnevnoj praksi. Za pečaćenje se najčešće koriste kompozitne smole ili staklenoionomerni cementi. Od 1996. godine počinje se istraživati povezanost BPA s dentalnim materijalima te se otkriva da se iz materijala za pečaćenje otpuštaju male količine BPA. Kada je riječ o maloj djeci i tretiranju kaviteta prvi izbor za ispune upravo je staklenoionomerni cement koji ne sadrži BPA, a on se nerijetko koristi i za pečaćenje fisura. Spoj pod nazivom bis-GMA (bisfenol-A glicidil metakrilat) vrsta je bisfenola A, odnosno smola koja

je dio kompozitnih materijala. Često se oslobađa iz zubnih ispuna, brtvila ili materijala koji se koriste za obnovu krune zuba. Dokazano je da je najveća koncentracija BPA u pacijentovoj slini neposredno nakon izrade ispuna na zubu, nakon čega se postupno snižava. Ipak, ne smije se isključiti kronična izloženost BPA u pacijenata s dentalnim ispunom / ispunima. Nakon izrade ispuna na kruni molara, dokazano je da se dnevno ispušta od 13 µg do 30 mg BPA (19). Također, visoke doze BPA monomera koji se nalaze u smolama povećavaju apoptozu i lomljenje DNA lanaca čime predstavljaju citotoksični utjecaj na gingivne fibroblaste (20, 21). Unatoč svim dokazima, nužno je provesti dodatna istraživanja vezana uz kontaminaciju bisfenolom A s obzirom na potencijalno oslobađanje preostalih monomera iz kompozitnih ispuna kroz dulji period vremena, kao i nejasno određenu koncentraciju BPA kojoj je pacijent izložen.

### Zaključak

Zahvaljujući mnogim istraživanjima koja su vršena na laboratorijskim životinjama uočeno je da BPA utječe na razvoj i izgled zuba, osobito na stvaranje opakih mrlja, sličnih onima kod molarno-incizivne hipomineralizacije. Defekti cakline nakon završetka amelogeneze nepovratni su, što naglašava važnost istraživanja utjecaja kemikalija poput BPA na razvoj zuba. Laboratorijska istraživanja na glodavcima pružaju korisne

uvide u ovaj proces i naglašavaju potrebu za očuvanjem optimalnih uvjeta tijekom amelogeneze i odontogeneze radi održavanja pravilnog razvoja zuba. Primjenom ispuna i pečata dolazi do kontaminacije usne šupljine s BPA, koji se nalazi unutar spoja bis-GMA, što može izložiti pacijente potencijalnim rizicima. Istraživanja na ljudima ograničavajuća su samim time što se bisfenol A može pronaći svugdje oko nas, u vodi, hrani, zraku te se zbog toga oslanjamo na dokaze u laboratorijskim istraživanjima. Osim toga za dokaz da bisfenol A utječe na razvoj MIH-a kod ljudi teško je izolirati samog pojedinca od ostalih faktora koji utječu na razvoj hipomineralizacije. Naglasak treba biti na provođenju daljnjeg istraživanja o kontaminaciji BPA iz stomatoloških materijala i potrebu za alternativama koje bi smanjile izloženost pacijenata ovom spoju, kao i istraživanjima o samoj povezanosti bisfenola A s razvojem molarno-incizivne hipomineralizacije.

## Literatura

1. Katia Jedeon, Clémence Marciano, Sophia Loiodice, Sofiane Boudalia, Marie-Chantal Canivenc Lavier, Ariane Berdal & Sylvie Babajko (2014) Enamel hypomineralization due to endocrine disruptors, *Connective Tissue Research*, 55:sup1, 43-47
2. F. Liu, F.-X. Reichl, S. Milz et al., Disrupted biomineralization in zebra mussels after exposure to bisphenol- A: Potential implications for molar-incisor hypomineralization, *Dental Materials*
3. Rujnić – Sokele M, Bisfenol A – kemikalija oko koje se lome koplja, *Polimeri*, 2012; 33(3-4):130-33
4. Erdec V, Fabekovec P, doc. dr. sc. Goršeta K, Bisfenol A, Sonda, travanj 2016; 52-54
5. Katia Jedeon, Ariane Berdal, Sylvie Babajko. The tooth, target organ of Bisphenol A, could be used as a biomarker of exposure to this agent. Yann Gibert. *Bisphenol A: Sources, Risks of Environmental Exposure and Human Health Effects*, Nova Science Publishers, Inc, pp. 205-225, 2015, *Biochemistry Research Trends*, 978-1-63463-210-2.
6. Antolčić D, Zagorac D, izv. prof. dr. sc. Goršeta K, MIH od A do Z – nove smjernice u terapiji i klasifikaciji, Sonda, srpanj 2023; 23-27
7. Hrvoje Brkić, Jelena Dumančić, Marin Vodanović, *Biologija i morfologija ljudskih zuba*, „NAKLADA SLAP”, 2016.
8. Katia Jedeon, Sophia Loiodice, Clémence Marciano, Alexia Vinel, Marie-Chantal Canivenc Lavier, Ariane Berdal, and Sylvie Babajko, Estrogen and Bisphenol A Affect Male Rat Enamel Formation and Promote Ameloblast Proliferation, *Endocrinology*, Volume 155, Issue 9, 1 September 2014, Pages 3365–3375
9. Katia Jedeon, Muriel De la Dure-Molla, Steven J. Brookes, Sophia Loiodice, Clémence Marciano, Jennifer Kirkham, Marie-Chantal Canivenc-Lavier, Sofiane Boudalia, Raymond Bergés, Hidemitsu Harada, Ariane Berdal, Sylvie Babajko, Enamel Defects Reflect Perinatal Exposure to Bisphenol A. *Am J Pathol*. 2013 Jul; 183
10. Erika Calvano Küchler, Rafaela Mariana de Lara, Marjorie Ayumi Omori, Agnes Schröder, Vinicius Broska Teodoro, Flares Baratto-Filho, Jorge Esquiche Léon, Peter Proff, Isabela Ribeiro Madalena, Christian Kirschneck 2021. Estrogen deficiency affects tooth formation and gene expression in the odontogenic region of female rats. *Annals of anatomy – Anatomischer Anzeiger* 2021 Jul; 236
11. Ohshima H, Ajima H, Kawano Y, Nozawa-Inoue K, Wakisaka S, Maeda T. 2000. Transient expression of heat shock protein (Hsp)25 in the dental pulp and enamel organ during odontogenesis in the rat incisor. *Arch Histol Cytol* 63:381–395.
12. Edwards DP, Adams DJ, McGuire WL. 1981. Estradiol stimulates synthesis of a major intracellular protein in a human breast cancer cell line (MCF-7). *Breast Cancer Res Treat* 1:209–223.
13. Jukic S, Prpic-Mehicic G, Talan-Hranilovic J, Miletic I, Segovic S, Anic I. 2003. Estrogen receptors in human pulp tissue. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 95:340–344.
14. McCarthy, T.L., Chang, W.Z., Liu, Y., Centrella, M., 2003. RUNX2 integrates estrogen activity in osteoblasts. *J. Biol. Chem.* 278, 43121–43129.
15. Ito, I., Hanyu, A., Wayama, M., Goto, N., Katsuno, Y., Kawasaki, S., Nakajima, Y., Kajiro, M., Komatsu, Y., Fujimura, A., Hirota, R., Murayama, A., Kimura, K., Imamura, T., Yanagisawa, J., 2010. Estrogen inhibits transforming growth factor beta signaling by promoting SMAD2/3 degradation. *J. Biol. Chem.* 284, 14747–14755.
16. Qian, S.W., Liu, Y., Wang, J., Nie, J., Wu, M.Y., Tang, Y., Zhao, Y.-X., Li, X., Huang, H.-y., Guo, L., Liu, X.-s., X, C.-j., Tang, Q.-q., 2016. BMP4 cross-talks with estrogen/ER signaling to regulate adiposity and glucose metabolism in females. *EBioMedicine* 11, 91–100.
17. Hietala, E.L., Larmas, M., Salo, T., 1998. Localization of estrogen-receptor-related antigen in human odontoblasts. *J. Dent. Res.* 77, 1384–1387.
18. Xu, X., Jeong, L., Han, J., Ito, Y., Bringas Jr, P., Chai, Y., 2003. Developmental expression of SMAD1-7 suggests critical function of TGF-beta/BMP signaling in regulating epithelial-mesenchymal interaction during tooth morphogenesis. *Int. J. Dev. Biol.* 47, 31–39.
19. Van Landuyt K.L., Nawrot T., Geebelen B., De Munck J., Snaawaert J., Yoshihara K., Scheers H., Godderis L., Hoet P., Van Meerbeek B.: How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dent Mater.* 2011; 27(8):723-747.
20. Engelmann J, Janke V, Volk J, Leyhausen G, von Neuhoff N, Schlegelberger B, Geurtsen W. Effects of BisGMA on glutathione metabolism and apoptosis in human gingival fibroblasts in vitro. *Biomaterials*. 2004 Aug;25(19):4573-80.
21. Urcan E, Scherthan H, Styllou M, Haertel U, Hickel R, Reichl FX. Induction of DNA double-strand breaks in primary gingival fibroblasts by exposure to dental resin composites. *Biomaterials*. 2010 Mar;31(8):2010-4.