

Bisfenol A, um dos fatores envolvidos na etiologia da Hipomineralização Incisivo-Molar?

Uma revisão sistemática

Mathilde Brigitte Jacqueline RITTER

Dissertação conducente ao Grau de Mestre em Medicina Dentária (Ciclo Integrado)

Gandra, 24 de setembro de 2021

Mathilde Brigitte Jacqueline RITTER

Dissertação conducente ao Grau de Mestre em Medicina Dentária (Ciclo Integrado)

**Bisfenol A, um dos fatores envolvidos na etiologia da
Hipomineralização Incisivo-Molar?
Uma revisão sistemática**

Trabalho realizado sob a Orientação da Mestre Ana Filipa Gonçalves Gomes.

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Eu, acima identificado, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste trabalho, confirmo que em todo o trabalho conducente à sua elaboração não recorri a qualquer forma de falsificação de resultados ou à prática de plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria do trabalho intelectual pertencente a outrem, na sua totalidade ou em partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores foram referenciadas ou redigidas com novas palavras, tendo neste caso colocado a citação da fonte bibliográfica.

Declaro, além disso, que nunca fui membro do conselho de administração remunerado, nem recebi honorários de consultoria nem fui testemunha ou consultor em processos judiciais, nunca fui porta-voz remunerado, nem fui empregado, nem recebi honorários ou royalties nem recebi bolsas para investigação com/para/por/de qualquer entidade relacionada com o trabalho relatado no manuscrito.

« C'est dans les utopies d'aujourd'hui que sont les solutions de demain. »

Pierre Rabhi, « Vers la sobriété heureuse »

« É nas utopias de hoje que se encontram as soluções de amanhã. »

Tradução da citação francesa de Pierre Rabhi, «Vers la sobriété heureuse »

RESUMO

A hipomineralização incisivo-molar (MIH) é uma patologia caracterizada pela diminuição da mineralização dos primeiros molares permanentes frequentemente associada aos incisivos permanentes. Clinicamente, apresenta como opacidades demarcadas do esmalte (mole e poroso) de cor diferente nos dentes afetados, que ocasionalmente sofrem uma quebra pós eruptiva. Embora a etiologia desta doença, que afeta cerca de 18% das crianças, seja incerta, existem algumas dúvidas sobre o bisfenol A (BPA). Esta molécula exibe efeitos que mimetizam o estrogênio (E2), poderá ter um papel na perturbação da amelogénese.

O objetivo deste estudo consiste em avaliar o conhecimento que a literatura científica atual nos traz sobre a possível influência do BPA na etiologia da MIH.

Formulou-se uma questão segundo a estratégica PICOS e como orientação o PRISMA. Uma pesquisa bibliográfica foi realizada na base de dados: PubMed, Cochrane Library e ScienceDirect utilizando combinações das palavras-chave e abrangendo artigos entre 2010 e 2021 de idioma inglês.

Mais de 83% da população apresenta concentração superior ao LOD nas suas urinas. A mediana das concentrações de BPA observadas é inferior à TDI. Correlação com: idade, inter-familiar, sócio-económico e localização. A hipomineralização do esmalte por BPA deve-se à perturbação de um pequeno número de genes que controlam a qualidade do esmalte, por EMPs, proteases e reguladores de homeostasia.

A contaminação por BPA é principalmente oral. A exposição ao BPA durante o período crítico da mineralização dentária, enfraquece o esmalte, tornando-o mais propenso a gerar defeitos de mineralização frequentes, tais como MIH.

Palavras-chave: Hipoplasia do Esmalte Dentário, Hipomineralização Incisivo-Molar, Amelogénese, Desreguladores Endócrinos, Bisfenol A, Factor(es) Perinatal.

ABSTRACT

Incisor molar hypomineralisation (MIH) is a pathology characterised by a decrease in the mineralisation of permanent first molars, often associated with permanent incisors. Clinically, it presents as demarcated enamel opacities of different color on affected teeth, which occasionally suffer post-eruptive breakdown due to the soft and porous enamel. While the aetiology of this disease (affecting about 18% of children), is uncertain, there are some questions about bisphenol A (BPA). This molecule exhibits effects that mimic estrogen (E2), may have a role in disturbing amelogenesis.

The aim of this study is to evaluate the knowledge that the current scientific literature provides on the possible influence of BPA on the aetiology of MIH.

A guiding question was formulated, according to the PICOS strategy and with PRISMA as a guideline. A bibliographic search was performed in the database: PubMed, Cochrane Library and ScienceDirect using combinations of keywords and covering articles between 2010 and 2021 in English.

More than 83% of the population presents concentration of BPA above the LOD. Median observed BPA concentrations lower than the TDI. Correlation with age, inter-family, socio-economic and location. Enamel hypomineralisation by BPA is due to disruption of a small number of genes controlling enamel quality, by EMPs, proteases and homeostasis regulators.

BPA contamination is mainly oral. Exposure to BPA during the critical period of tooth mineralization, weakens enamel, making it more prone to generate frequent mineralization defects such as MIH.

Key words: Dental Enamel Hypoplasia, Molar Incisor Hypomineralization, Amelogenesis, Endocrine Disruptors, Bisphenol A, Perinatal factor(s).

ÍNDICE GERAL

| | |
|--|----|
| 1- Introdução..... | 1 |
| 2- Objetivos..... | 3 |
| 3- Materiais e Métodos..... | 4 |
| 3.1- Critérios de Elegibilidade..... | 4 |
| 3.2- Fontes de informação..... | 5 |
| 3.3- Estratégias de busca. | 6 |
| 3.4- Processo de seleção dos artigos..... | 8 |
| 3.5- Processo de coleta de dados..... | 9 |
| 4- Resultados..... | 10 |
| 4.1- Seleção dos artigos..... | 10 |
| 4.2- Características dos estudos incluídos..... | 13 |
| 4.2.1- Ano de publicação..... | 13 |
| 4.2.2- Tipo de estudos..... | 14 |
| 4.2.3- Categorias dos estudos..... | 14 |
| 4.2.4- Características dos estudos em animais..... | 15 |
| 4.2.5- Características dos estudos em humanos..... | 16 |
| 4.3- Resultados dos estudos individuais..... | 17 |
| 5- Discussão..... | 27 |
| 5.A- BPA em crianças e mulheres grávidas..... | 27 |
| 5.A.1- Bisfenol A: um desregulador endócrino ubíquo..... | 27 |
| 5.A.1.a- Bisfenol A..... | 27 |



| | |
|---|----|
| 5.A.1.b- Biomonitorização humana e liquid chromatography–tandem mass spectrometry..... | 29 |
| 5.A.1.c- Percentagem da população odontopediátrica com concentrações de BPA na sua urina..... | 30 |
| 5.A.1.d- EFSA 2015: propõe um novo TDI na base do princípio Paracelsus..... | 31 |
| 5.A.2- Concentração de BPA excretada nas urinas dos pacientes odontopediátricos (µg/L)..... | 33 |
| 5.A.2.a- Excreções urinária de BPA em amostras de urina expressas em concentrações..... | 33 |
| 5.A.2.b- A dose de ingestão diária média..... | 34 |
| 5.A.2.c- Padrões de exposição relacionados com a idade..... | 34 |
| 5.A.2.d- Níveis de exposição entre membros da família..... | 35 |
| 5.A.2.e- Variações de acordo com a localização..... | 35 |
| 5.A.2.f- Correlações observadas entre o BPA e diferentes metabolitos de ftalatos..... | 36 |
| 5.A.3- Exposição ao BPA por estilo de vida e consumo..... | 36 |
| 5.A.4- Efeitos estabelecidos do BPA..... | 38 |
| | |
| 5.B- BPA como um fator na etiologia da MIH e possível mecanismo de ação..... | 40 |
| | |
| 5.B.1- Associação do MIH com fatores pré-natais, natais e pós-natais..... | 40 |
| 5.B.2- Breve resumo da fisiologia da amelogénese..... | 41 |
| 5.B.3- Hipomineralização molar-incisivo : MIH..... | 41 |
| 5.B.3.a- Definição..... | 42 |
| 5.B.3.b- Etiologia..... | 42 |
| 5.B.4- Conhecimento dos mecanismos de ação do BPA a partir do estudo do rato..... | 43 |
| 5.B.4.a- Os ratos são um bom modelo para estudar a amelogénese..... | 43 |
| 5.B.4.b- Exame clínico do esmalte de rato e janela de tempo de desenvolvimento específico..... | 44 |
| 5.B.4.c- BPA induz a proliferação de ameloblastos por ERα..... | 45 |
| 5.B.4.d- BPA induz o aumento do conteúdo orgânico, uma perturbação da hemóstase iónica e do pH..... | 47 |
| 5.B.4.e- Caracterização dos eventos moleculares subjacentes aos defeitos do esmalte..... | 48 |
| 5.B.4.f- Impacto preferencial do BPA nos machos..... | 49 |



| | |
|--|----|
| 5.B.4.g- Efeitos da combinação de BPA e outros EDCs..... | 50 |
| 5.B.5- BPA é um fator na etiologia da MIH..... | 51 |
| 6. Limitações..... | 53 |
| 7- Conclusão..... | 55 |
| 8- Referências Bibliográficas..... | 57 |

Índice de figuras e gráficos

| | |
|---|----|
| <u>Figura 1</u> - Diagrama de fluxo PRISMA..... | 12 |
| <u>Figura 2</u> - Distribuição por ano de publicação dos artigos incluídos..... | 13 |
| <u>Figura 3</u> - Distribuição por tipo de estudo..... | 14 |

Índice de tabelas

| | |
|---|----|
| <u>Tabela 1</u> - Estratégia PICOS..... | 4 |
| <u>Tabela 2</u> - Estratégia de busca e as bases de dados utilizados..... | 6 |
| <u>Tabela 3</u> - Características dos estudos em animais..... | 15 |
| <u>Tabela 4</u> - Características dos estudos em humanos..... | 16 |
| <u>Tabela 5</u> - Dados e resultados extraídos dos estudos incluídos sobre a concentração do BPA nos corpos de pacientes odontopediátricos..... | 18 |
| <u>Tabela 6</u> - Dados e resultados extraídos dos estudos incluídos sobre a influência do BPA na etiologia da MIH..... | 21 |

Lista de SIGLAS de Abreviaturas

μCT : micro computed tomography

AR : Receptor de Androgénio

ARE : Androgen-Responsive Element (elemento androgénio-responsivo)

BPA : Bisfenol A

E2 : Estrogénio

EDCs : Endocrine-Disrupting Chemicals (químicos desreguladores endócrinos)

EFSA : European Food Safety Authority (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar)

EMP : Proteínas da Matriz do Esmalte

ER : Receptor de Estrogénio

ERR : Estrogen-Related Receptor

ERE : Estrogen Receptor Element (Elemento Receptor de Estrogénio)

Klk4 : Kallikrein 4

LOD : Limit of detection

MIH : Molar Incisor Hypomineralization (hipomineralização incisivo-molar)

MMP-20 : Matrix metalloproteinase-20

MMTV : Mouse Mammary Tumor Virus (vírus do tumor mamário do rato)

PGR : Progesterone Receptor (receptor de progesterone)

PVC : Polyvinyl Chloride Plastics (plástico de policloreto de vinilo)

qPCR : PCR quantitativa

SEM : scanning electron microscopy

siRNA : small interfering RNA (pequeno RNA interferente)

SLCs : Transportador de soluto

T : Testosterona

TDI : Tolerable Daily Intake (dose diária admissível)

1- Introdução

Durante o processo de desenvolvimento altamente complexo do esmalte dentário⁽¹⁾, a fase de amelogénese envolve ameloblastos. Conhecidos pela sua maior sensibilidade ⁽²⁾⁽³⁾ e que se encontram sob controlo genético rigoroso, estes ameloblastos secretam proteínas da matriz do esmalte (EMP) como amelogenina, enamelinina, ameloblastina, amelotina e tuftelina, e proteases (Klk4 e MMP-20) que degradam a matriz de esmalte permitindo o subsequente crescimento de cristais minerais.

O tamanho, forma, sombra, susceptibilidade de cárie⁽⁴⁾ e mesmo microdureza do esmalte⁽⁵⁾ podem ser afetados pela variação genética ou epigenética. Podem ocorrer diferentes tipos de defeitos do esmalte, dependendo do estadio de desenvolvimento afetado.

A hipoplasia do esmalte é o defeito dentário resultado da redução da espessura do esmalte, que ocorre durante a fase de secreção da amelogénese. Quando os ameloblastos são afetados na fase tardia de amelogénese ou maturação, pode ocorrer um defeito na translucidez do esmalte, estes defeitos são chamados de hipomineralização do esmalte. ⁽⁶⁾⁽⁷⁾ Quando este defeito afeta os molares e incisivos, é referido como Hipomineralização incisivo-molar (MIH).

Clinicamente, caracteriza-se por opacidades, assimétricas, brancas, cremosas ou amareladas a hipomineralizadas bem demarcadas resultando em hipersensibilidade dentária ⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾ levando a evitar escovagem, retenção de placa bacteriana, desenvolvimento de cárie ⁽¹¹⁾⁽¹²⁾, inflamação crónica da polpa ⁽¹³⁾, e uma degradação pós-eruptiva devido a forças mastigatórias para os molares severamente afectados.⁽¹¹⁾⁽¹⁴⁾ Além disso, existem preocupações estéticas, especialmente para os incisivos superiores afetados ⁽¹⁵⁾, um impacto negativo na auto-percepção oral das crianças⁽¹⁶⁾, bem como na percepção da família sobre a saúde oral dos seus filhos. ⁽¹⁷⁾

A MIH é portanto considerado um dos problemas de saúde pandémicos mais generalizados, criando uma grande carga de tratamento ⁽¹⁸⁾, enquanto que as intervenções terapêuticas são muito difíceis para os clínicos e pacientes odontopediátricos. ⁽¹⁴⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾

Importa ainda notar que este defeito dentário, raro há cinquenta anos, afeta agora entre 2,4% a 40,2% (média de aproximadamente 18%) de crianças⁽²¹⁾, e apresenta uma evolução epidemiológica semelhante às doenças relacionadas com os químicos desreguladores endócrinos (EDCs). Observamos igualmente, que afeta principalmente os primeiros dentes a mineralizar, desde o terceiro trimestre de vida fetal até quatro-cinco anos após o nascimento⁽⁹⁾, o que corresponde ao período de maior vulnerabilidade aos EDCs. Além disso, embora a etologia da MIH é incerta ⁽²²⁾, o facto de os ameloblastos poderem ser afetados por qualquer influência ambiental ou alteração genética durante a amelogénese ⁽²³⁾, leva-nos a questionar a influência dos EDCs na etiologia da MIH.

Entre os milhares de EDCs, a nossa atenção está voltada especificamente para o Bisfenol A (BPA), cuja estrutura semelhante as hormonas esteróides exibe efeitos que mimetizam o estrogénio (E2). De fato, estudos relatam que o BPA exerce efeitos agonistas nos receptores de estrogénio clássicos (ER α e ER β) ⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾ e não clássicos (receptor acoplado à proteína G (GPCR) e receptor gama ligado ao estrogénio (ERR γ))⁽²⁶⁾, e a amelogénese pode ser afetada por estas interações.

Para além disso, o BPA é uma das substâncias químicas de maior volume produzidas em todo o mundo, com mais de 2,5 mil milhões de quilograma produzidas por ano, e cujos lucros ascendem a 2,4 milhões de dólares/hora. De notar que essa molécula omnipresente nas nossas vidas, entra na composição de plástico policarbonato, resinas epoxídicas utilizadas em latas metálicas de alimentos, selantes dentários, papel térmico⁽²⁷⁾, e indústrias de policloreto de vinilo (PVC).⁽²⁸⁾ O PVC é utilizado no fabrico de produtos médicos, incluindo os encontrados em unidades de cuidados intensivos neonatais (UCIN)⁽²⁹⁾. No entanto, alguns estudos detectam a presença do BPA em líquido amniótico⁽³⁰⁾, leite materno⁽³¹⁾⁽³²⁾, e fluido amniótico materno e plasma fetal ⁽³³⁾⁽³⁴⁾. Então, se o BPA é capaz de atravessar facilmente a barreira placentária, recordemos que a sensibilidade aos EDCs é a maior durante o período perinatal. Por conseguinte, muitas patologias diagnosticadas durante a idade adulta resultariam da exposição fetal e perinatal a estas moléculas. ⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾⁽³⁶⁾

2- Objetivos

A controvérsia entre investigadores, industriais, políticos e agências de saúde devido a questões económicas e ideológicas contraditórias torna ainda mais necessária a compreensão dos mecanismos de ação destas moléculas perturbadoras. Assim, o objetivo desta revisão sistemática será avaliar o conhecimento que a literatura científica atual nos traz sobre a possível influência do BPA na etiologia da MIH.

Para cumprir o objetivo primário, foram desenvolvidos objetivos secundários:

- Recolher informações sobre a presença de BPA no corpo de pacientes odontopediátricos.
- Compreender como e por quais mecanismos de ação, a exposição pré e pós-natal ao BPA pode alterar a atividade dos ameloblastos e gerar defeitos irreversíveis do esmalte, como hipomineralização incisivo-molar (MIH).

3- Materiais e Métodos

Para a realização desta revisão, foi utilizada como orientação a checklist com 27 itens do PRISMA (“The Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-analysis”) (<http://www.prisma-statement.org/>).

3.1- Critérios de Elegibilidade

Segundo a estratégia PICOS “Population, Intervention, Comparison, Outcomes and Study design”, formulou-se uma questão norteadora como podemos ver na tabela seguinte. (Tabela 1)

Tabela 1- Estratégia PICOS

| | |
|----------------------------|---|
| <u>População</u> | Estudos clínicos de pacientes humanos ou animais (ratos) submetidos a exposição ao BPA. Estudos de investigação da dissecação de tecidos dentários de sujeitos humanos ou animais (ratos) que tenham sido expostos ao BPA. |
| <u>Intervenção</u> | Compreender como o BPA afeta a amelogénese. Verificar a presença de BPA na urina de mulheres grávidas ou crianças. |
| <u>Comparação</u> | Entre o grupo exposto ao BPA e o grupo de controlo (não exposto ao BPA, se possível). |
| <u>Resultados</u> | Resultados de estudos clínicos sobre os efeitos do BPA na amelogénese: - presença ou ausência de defeitos na mineralização do tecido dentário. - presença ou ausência de BPA nos corpos de crianças ou mulheres grávidas. |
| <u>Desenho dos estudos</u> | Estudos randomizados controlados, estudos pré-clínicos in vitro e in vivo, estudos observacionais (relatos de casos-dissecação-, caso-controle e coorte) transversais, revisões e estudos prospetivos e retrospectivos. |

-Critérios de inclusão

- Artigos publicados desde 2010 até junho 2021 ;
- Idioma: Inglês;
- Artigos disponíveis em formato digital ;
- Estudos randomizados controlados, estudos pré-clínicos in vitro e in vivo, estudos observacionais, estudos transversais, relatos de casos, estudos de coorte, estudos caso-controle, revisões e estudos prospetivos e retrospectivos.

-Critérios de exclusão

- Meta-análises, revisões e revisões sistemáticas ;
- Teses e dissertações ;
- Artigos anteriores a 2010 ;
- Artigos cujo título e/ou resumo não se enquadram na temática ;
- Artigos com idioma diferente do Inglês ;
- Artigos não disponibilizados em formato digital ;
- Estudos utilizando "Sprague Dawley" Rats

3.2- Fontes de informação

Uma pesquisa bibliográfica para identificar estudos foi realizada na base de dados até junho de 2021:

- PubMed (via National Library of Medicine) : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>,
- ScienceDirect : <https://www.sciencedirect.com>, e
- Cochrane Library : www.cochranelibrary.com/advanced-search

A pesquisa foi conduzida através de palavras-chave e termos MeSH relacionados com o tema em questão.

Palavras-chave:

BPA, Bisphenol A, Endocrine Disruptor(s), Environmental Toxicant(s), Receptor(s) Hormone(s), Estrogen, Steroid(s), Oral, Mouth, Tooth, Incisor, Enamel Organ, Amelogenesis, Ameloblast(s), Enamel mineralization, Enamel Formation, Enamel Synthesis, MIH, Molar

Incisor Hypomineralization, Dental Enamel Hypoplasia, Enamel hypomineralization, Enamel defects, Developmental enamel defects, Prenatal-natal e postnatal fator(s).

Termos MeSH :

Dental Enamel Hypoplasia (Unique ID : D003744)

Endocrine Disruptors (Unique ID : D052244)

3.3- Estratégias de busca

Foi realizada uma pesquisa avançada utilizando as palavras-chave na base de dados com diferentes combinações e foram analisados artigos publicados entre 2010 e 2021 de idioma Inglês. Os filtros aplicados foram « Clinical Trial » e « Randomized controlled Trial ». Na base de dados Science Direct, acrescentámos o filtro « Subject areas : Medicine and Dentistry ».

Os resumos dos artigos foram analisados para determinar se abordavam o impacto do BPA na saúde oral das crianças ou se os artigos nos derem informações sobre a presença de BPA no corpo dos pacientes odontopediátricos.

As estratégias de busca estão detalhadas na seguinte tabela. (Tabela 2).

Tabela 2- Estratégia de busca e as bases de dados utilizados

| Base de dados | Estratégia de busca | Artigos identificados através de filtros automáticos | Artigos selecionados |
|---------------|---|--|----------------------|
| PubMed | (Prenatal-natal-postnatal factors) AND ((Molar Incisor Hypomineralization) OR (MIH) OR (amelogenesis) OR (enamel mineralization) OR (enamel defects) OR (developmental enamel defects) OR (Dental Enamel Hypoplasia)) | 1 | 1 |
| | ((Bisphenol A) OR (BPA)) AND ((Enamel Formation) OR (Enamel Synthesis) OR (Enamel hypomineralization) OR (Amelogenesis) OR (MIH)) | 15 | 8 |

| | | | |
|--|---|-----|---|
| | ((Endocrine Disruptors) OR (Environmental Toxicants) OR (Bisphenol A) OR (BPA)) AND ((Incisor) OR (Enamel Organ) OR (Enamel Formation) OR (Enamel Synthesis) OR (Enamel hypomineralization) OR (Amelogenesis) OR (MIH)) | 63 | 9 |
| <u>Cochrane Library</u> | ((BPA) OR (bisphenol A)) in Record Title - with Publication Year from 2010 to 2021, in Trials (Word variations have been searched) | 48 | 0 |
| <u>Science Direct :</u> in Medicine and Dentistry | ((BPA) OR (bisphenol A)) AND ((amelogenesis) OR (enamel mineralization) OR (Dental Enamel Hypoplasia)) | 176 | 1 |
| | ((Exposure) OR (Level)) AND (Urinary) AND ((BPA) OR (Bisphenol)) AND ((Pregnancy) OR (Pregnant) OR (Gravidity) OR (Maternal-Fetal Exchange)) | 138 | 6 |
| | (BPA) OR (bisphenol) Publication title : « The Journal of Pediatrics » | 11 | 1 |
| | (BPA) OR (bisphenol) Publication title : « International Journal of Hygiene and Environmental Health » | 86 | 2 |
| | (BPA) OR (bisphenol) Publication title : « Biomedical and Environmental Sciences » | 48 | 1 |
| | (BPA) OR (bisphenol) Publication title : « American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics » (23) AND « Archives of Oral Biology » (14) AND « Biomedicine & Pharmacotherapy » (21) AND « Cahiers de Nutrition et de Diététique » (13) AND « Fertility and Sterility » (22) AND « Free Radical Biology and Medicine » (10) AND « International Journal of Cardiology » (21) AND « Journal of Dental Sciences » (21) AND « Journal of Endodontics » (41) AND « Journal of Prosthodontic Research » (21) AND « Life Sciences » (19) AND « Medical Hypotheses » (19) AND « Molecular and Cellular Endocrinology » (75) AND « Neurolmage” (9) AND “Contemporary Clinical Trials » (10) AND « Placenta » (10) AND « The Journal of the American Dental Association » (22) AND « The Journal of Nutritional Biochemistry » (13) AND « The Saudi Dental Journal » (13) | 438 | 0 |

3.4- Processo de seleção dos artigos

Após realizar pesquisas avançadas utilizando diferentes combinações de palavras-chave e termos MeSH nas diferentes bases de dados, utilizou-se os filtros automáticos para restringir a nossa pesquisa. Os artigos sugeridos foram adicionados a Mendeley e com esta ferramenta conseguimos remover duplicados.

Para determinar se o estudo cumpriu os nossos critérios de inclusão, leu-se o título e as palavras-chave dos artigos propostos pelos vários motores de busca. Dos artigos selecionados, avaliou-se cuidadosamente o resumo.

Esta avaliação primária foi realizada por dois autores, M.R. e A.G., para encontrar artigos que pudessem ir ao encontro dos nossos objetivos.

Uma vez feito isto, foi feita uma seleção secundária, que consistiu em ler cuidadosamente os artigos potencialmente elegíveis, particularmente as secções "materiais e métodos" e "resultados", e avaliar a sua elegibilidade.

Eliminámos então alguns artigos que não cumpriam os objetivos desta revisão, ou artigos cujos autores têm conflitos de interesse. De facto, estamos particularmente atentos para assegurar que esta revisão seja tão objetiva quanto possível.

Por razões de objetividade, uma vez mais, favoreceremos estudos que utilizem métodos de "biomonitorização humana" ou seja, a determinação de substâncias químicas ou dos seus metabolitos nos tecidos humanos (como a urina), a fim de reduzir o número de erros susceptíveis de serem inerentes aos meios convencionais de avaliação da exposição.

A fim de completar o nosso processo de seleção, os artigos terem sido completamente avaliados, alguns dados foram extraídos e organizados numa tabela.

3.5- Processo de coleta de dados

Utilizámos os artigos incluídos para recolher informações (enumerados abaixo) que registámos cuidadosamente numa tabela. Nome do primeiro autor, Ano de publicação, Tipo de estudo; Título do artigo; Objetivos; Participantes; Principais resultados: concentrações de BPA detectadas na urina dos participantes ou defeitos de tecidos dentários observados após exposição ao BPA.

4- Resultados

4.1- Seleção dos artigos

Etapa I : Resultados da base de dados

O processo de pesquisa para esta revisão baseia-se em três bases de dados (citado acima 2.2).

Primeiro passo, o processo de identificação foi realizado na base de dados PubMed utilizando estas três "Query box" (caixas de consulta):

#1 : (Prenatal-natal-postnatal factors) AND ((Molar Incisor Hypomineralization) OR (MIH) OR (amelogenesis) OR (enamel mineralization) OR (enamel defects) OR (developmental enamel defects) OR (Dental Enamel Hypoplasia))

#2 : ((Bisphenol A) OR (BPA)) AND ((Enamel Formation) OR (Enamel Synthesis) OR (Enamel hypomineralization) OR (Amelogenesis) OR (MIH))

#3 : ((Endocrine Disruptors) OR (Environmental Toxicants) OR (Bisphenol A) OR (BPA)) AND ((Incisor) OR (Enamel Organ) OR (Enamel Formation) OR (Enamel Synthesis) OR (Enamel hypomineralization) OR (Amelogenesis) OR (MIH))

#1, dando 1 resultado que coincide com os critérios de selecção.

#2, dando 16 resultados. Depois foi aplicado os filtros "2010-2021" e "Clinical Trial, Randomized Controlled Trial" para finalmente obter 15 resultados.

#3, de 130 resultados iniciais, aplicou-se os filtros de data de publicação para finalmente obter 63 resultados.

Segundo passo neste processo de identificação, foi realizada uma pesquisa avançada sobre Cochrane Library utilizando "(BPA) OR (Bisfenol A)" e identificados 723 ensaios.

Note-se que as variações de palavras foram pesquisadas automaticamente. Ao aplicar ferramentas de automatização, tais como "Record Title", e a primeira publicação entre 2010 e 2021, finalmente foram identificados 48 artigos.

Terceiro passo, desta fase de identificação, realizou-se uma pesquisa avançada no website Science Direct, utilizando "((BPA) OR (bisfenol A)) AND ((amelogénese) OR (mineralização do esmalte) OR (Hipoplasia do esmalte dentário))" e obteve-se 738 resultados.

A fim de refinar o processo de identificação, utilizou-se as ferramentas de pesquisa automática acrescentando o filtro do domínio de pesquisa "Medecine and Dentistry" e obteve-se 358 resultados. Depois foi acrescentado os filtros correspondentes aos critérios de inclusão que são "Artigo de Investigação" entre 20210 e 2021. Ao fazê-lo, foram identificados 176 artigos.

Usando "((Exposure) OR (Level)) AND (Urinary) AND ((BPA) OR (Bisphenol)) AND ((Pregnancy) OR (Pregnant) OR (Gravidity) OR (Maternal-Fetal Exchange))" obteve-se 1805 resultados dos quais 501 correspondiam ao nosso campo de estudo. Destes 501 resultados, 138 foram artigos de investigação publicados pela primeira vez na limitação definida pelos critérios de inclusão.

Por fim, foi decidido expandir a pesquisa para incluir apenas o termo "(BPA) OR (bisphenol) " e identificados que este constava de 57.161 artigos, dos quais 7.363 eram sobre o tema "Medicine and Dentistry". Ao concentrar nos artigos "Research articles" (3.824) e ao refinar por data, conseguiu-se identificar 2 247 resultados.

Posteriormente, os artigos identificados através das ferramentas de seleção automática do "Título da publicação". "The Journal of Pediatrics" trouxe 11 artigos, "International Journal of Hygiene and Environmental Health" 86 artigos, "Biomedical and Environmental Sciences" 48 e as restantes revistas de publicação científica relacionadas com a odontologia permitiram identificar 438 artigos.

Etapa II : Revisão dos artigos

Foram lidos 33 artigos na sua totalidade e finalmente selecionados 16 deles de acordo com os critérios de inclusão e os objetivos da presente revisão.

Etapa III : Artigos incluídos

Finalmente, 16 artigos foram incluídos na presente revisão sistemática. O processo de seleção dos artigos é ilustrado no diagrama de fluxo PRISMA. (Figura 1)

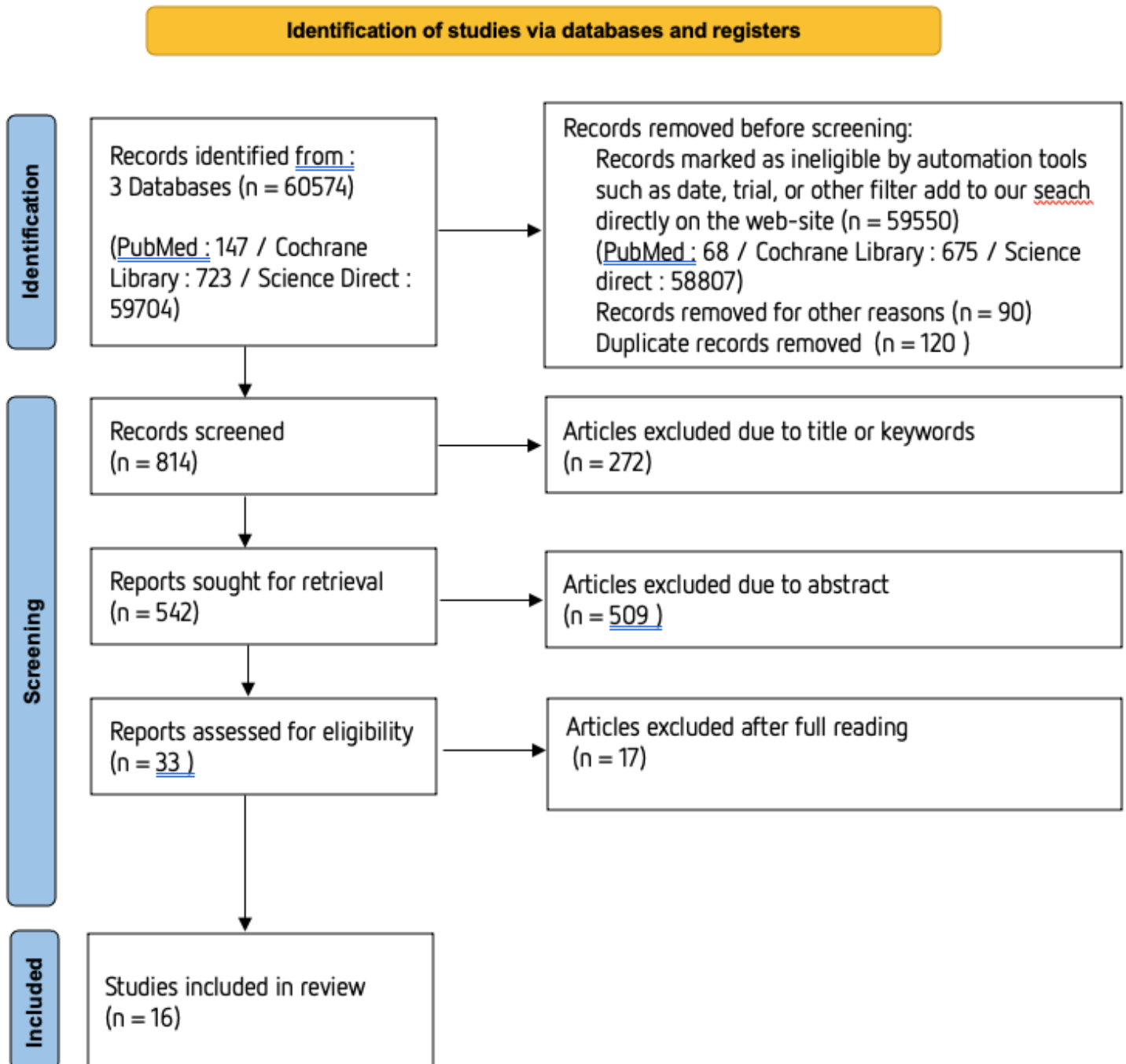


Figura 1- Diagrama de fluxo PRISMA⁽³⁷⁾

4.2- Características dos estudos incluídos

4.2.1- Ano de publicação

Relativamente ao período de publicação, o ano 2016 registou o maior número de artigos sobre o assunto em questão, apresentando 5 artigos (31%), o ano 2014 é o segundo, apresentando um quarto dos artigos selecionados (25%). 2013 oferece 3 artigos (19%). Os anos 2012, 2017, 2018 e 2020 propõe-nos cada ano um artigo. Note-se que os anos 2010, 2011, 2015, 2019 e 2021 não contêm artigos selecionados.

A figura abaixo dá uma representação visual da distribuição do número de artigos selecionados por ano.

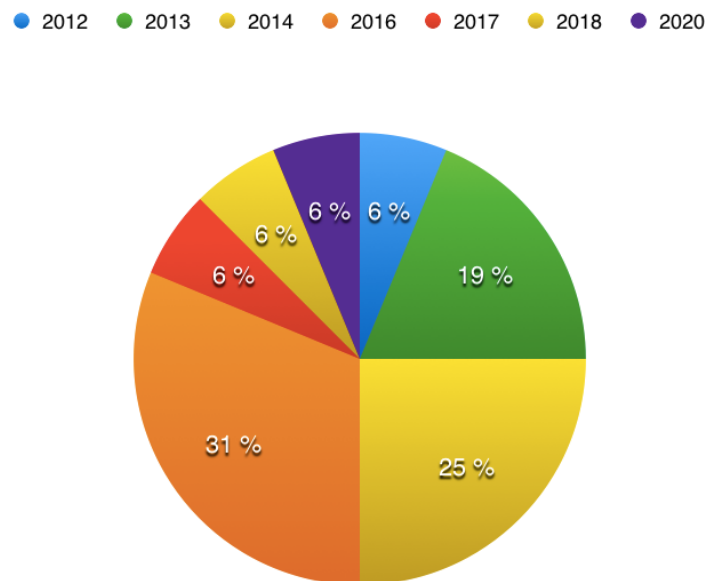


Figura 2- Distribuição por ano de publicação dos artigos incluídos

4.2.2-Tipo de estudo

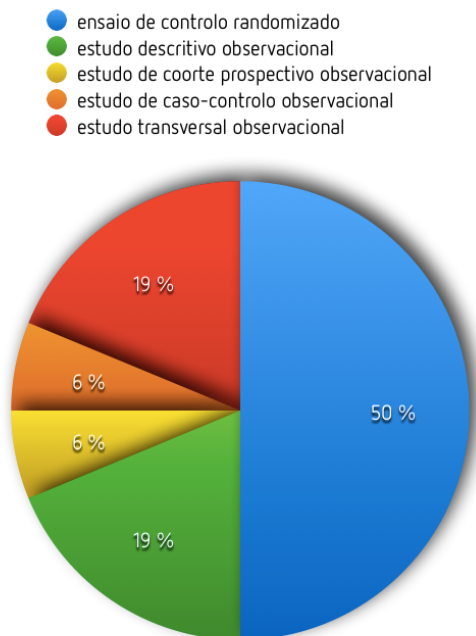


Figura 3- Distribuição por tipo de estudo

Dentro os estudos selecionados, oito são estudos experimental de ensaio de controlo randomizado. Para os estudos observacionais, três são descritivos. No que diz respeito aos estudos analíticos observacionais, um é um estudo de coorte, um é um estudo de controlo de casos, e os outros três são transversais.

4.2.3- Categorias dos estudos

Da análise do conteúdo dos artigos selecionados para esta revisão sistemática emergiram 2 categorias de estudo:

- estudos que abordaram a possibilidade de BPA ser encontrada nos corpos de pacientes odontopediatricos (mulher grávida ou criança) (7/16)
- estudos sobre os efeitos do BPA na mineralização do tecido (9/16)

4.2.4- Características dos estudos em animais

| | Jedeon (2013) ⁽³⁸⁾ | Jedeon (2014a) ⁽³⁹⁾ | Jedeon (2014b) ⁽⁴⁰⁾ | Jedeon (2016a) ⁽⁴¹⁾ | Jedeon (2016b) ⁽⁴²⁾ | Jedeon (2016c) ⁽⁴³⁾ | Houari (2016) ⁽⁴⁴⁾ | Houari (2018) ⁽⁴⁵⁾ |
|--|--|---|--|--------------------------------|--------------------------------|---|-------------------------------|---|
| Modelo | Wistar Han ratos | Wistar Han ratos | Wistar Han ratos | Wistar Han ratos | Wistar Han ratos | Wistar Han ratos | Wistar Han ratos | Wistar Han ratos |
| Tamanho da amostra | 32 | NR | 32 | 32 | 48 | 32 | 32 | NR |
| Sexo Masculino: M Feminino: F | M | M | M&F | F | M | M&F | M&F | M |
| Amostra biológica | - Dentes MIH de pacientes - HAT-7 células ameloblasticas de ratos | - HAT-7 células ameloblasticas de ratos | - HAT-7 células ameloblasticas de ratos - MCF-7 | - | - | - HAT-7 células ameloblasticas de ratos | - Tecidos do dos ovários | - HAT-7 células ameloblasticas de ratos |
| SEM-EDX | V | - | V | - | V | - | - | V |
| HAT-7 Rato Ameloblast-Like Cell Culture, Treatments, e Transfections | V | V | V | - | - | V | V | V |
| RT-qPCR | V | V | V | V | V | V | V | V |
| Ensaio IHC | V | V | V | NR | V | V | V | V |
| MTT e BrdU | | | V | | | | | |
| Estatística | V | V | V | V | V | V | V | - |

Tabela 3- Características dos estudos em animais

4.2.5. Características dos estudos em humanos

| | | TANG (2011) ⁽⁴⁶⁾ | Callan (2012) ⁽⁴⁷⁾ | Frederiksen (2013a) ⁽⁴⁸⁾ | Frederiksen (2013b) ⁽⁴⁹⁾ | Moos (2014) ⁽⁵⁰⁾ | Cutanda (2014) ⁽⁵¹⁾ | Pell (2017) ⁽⁵²⁾ | Elzein (2020) ⁽⁵³⁾ |
|----------------------------|--|--------------------------------|------------------------------------|---|--|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| Características da amostra | Tamanho da amostra | 154 crianças | 26 mulheres a 38 de gestação | 129 crianças | 145 mães 143 crianças | 59 pares mãe-filho | 120 pares mãe-filho | 218 pares mãe-filho | 659 crianças |
| | País | China | Austrália | Dinamarca | Dinamarca | Alemanha | Espanha | Estados Unidos da América | Líbano |
| | Idade (em anos) | 8-13 | 25-39 | 6-21 | 6-11 + mães | Crianças : 6-8 Mães : 29-48 | 6-11 | 8 | 7-9 |
| Recolha de dados | Questionário | V | V | X | X | X | V | V | V |
| | Amostra de urina | X | primeira amostra de urina da manhã | 2 primeiras amostras de urina matinal consecutivas e 1 amostra de urina de 24 h | primeiras amostras de urina da manhã | amostra de urina | primeira amostra de urina da manhã | amostra única de urina da criança | X |
| | Outra amostra | Água do rio | - | - | - | - | - | - | diagnóstico |
| Análise química | LC – MS/MS systems | NR | V | V | V | V | V | NR | - |
| | LOD (ng/mL) | - | NR | 0.12 | 0.12 | NR | NR | NR | - |
| | Excreção urinária de BPA 10 ⁻⁶ g/L | - | V | V | V | V | - | V | - |
| | Excreção urinária de BPA ajustada x10 ⁻⁶ g/g crea | - | V | - | V | V | V | V | - |
| Análise estatísticas | | V | V | V | V | V | V | V | V |

Tabela 4- Características dos estudos em humanos

4.3- Resultados dos estudos individuais

Os resultados mais pertinentes encontrados em cada estudo foram extraídos e subsequentemente foram organizados numa tabela de forma a propiciar uma análise mais dinâmica, interativa e estruturada. (Tabela 5 e 6)

Tabela 5- Dados e resultados extraídos dos estudos incluídos sobre a concentração do BPA nos corpos de pacientes odontopediátricos

| Autor (ano) => Tipo de estudo | Título do artigo | Objectivos | Participantes (n=) Método | Resultados sobre as concentrações de BPA | Resultados |
|---|--|--|---|--|---|
| Tang (2012) ⁽⁴⁶⁾ => cross sectional | Influence of Polluted SY River on Child Growth and Sex Hormones | Investigar a influência do rio SY poluído no crescimento e hormonas sexuais das crianças, hormonas, e fornecer dados científicos para a avaliação do estado de poluição do rio SY. | Crianças de 8 a 13 anos de idade (n=154). 69 na zona poluída e 85 da zona de controlo. Medição de índices de desenvolvimento físico (altura, peso, circunferência do busto, e espessura da prega cutânea) e hormonas sexuais [testosterona (T) e estradiol]. BPA medida na água do rio e na água potável. | Concentrações na água potável na área poluída : significativamente mais elevadas do que na área de controlo | Indicadores antropométricos e hormonas sexuais: - <u>Rapazes</u> : Estradiol e T significativamente mais elevados na área poluída do que na área de controlo - <u>Raparigas</u> : a espessura da dobra da pele, Estradiol e T eram significativamente mais altas na área poluída do que na área de controlo |
| Callan (2012) ⁽⁴⁷⁾ => cross sectional | Urinary bisphenol A concentrations in pregnant women | Investigar a exposição ao bisfenol A em mulheres australianas grávidas como substituto da exposição neonatal. | 26 mulheres grávidas (semana 38) de Austrália Ocidental. Primeira amostra de urina matinal e questionário. | detectado na urina de 84,6% dos participantes, mediana de 2,41 µg/L. GM concentrações não ajustadas de BPA urinária: 1,63 µg/L ; e GM concentrações ajustadas: 1,95 µg/g de creatinina. | 100% dos participantes reportaram o armazenamento de alimentos em recipientes de plástico, e 65% reportando o reaquecimento de alimentos no microondas em recipientes de plástico reutilizáveis. A maioria dos participantes reportou a utilização de garrafas recarregáveis pelo menos 4 vezes por semana e o consumo de alimentos enlatados. |
| Frederiksen (2013a) ⁽⁴⁸⁾ => descritivo observacionais | Bisphenol A and other phenols in urine from Danish children and adolescents analyzed by isotope diluted TurboFlow-LC-MS/MS | Investigar a excreção urinária de oito fenóis em crianças dinamarquesas recrutadas da população em geral. | Duas primeiras amostras de urina matinal consecutivas e uma amostra de urina de 24 h (= 3 amostras) de 129 crianças e adolescentes dinamarqueses saudáveis (6-21 anos) - crianças saudáveis com idades entre os 6-16 anos : n=104 - adolescentes saudáveis de 17-21 anos de idade : n=25 | detectado em 82,9% das amostras de 24 horas e em mais de 77% das primeiras amostras de urina da manhã. Concentrações máximas : 20 e 50 vezes mais elevadas em urina 24 horas e na primeira urina da manhã, respectivamente, do que os níveis medianos. Quantidade absoluta excretada durante 24 horas : média de 41,4% excretada na primeira urina da manhã. | O nível de BPA significativamente correlacionado (níveis de p < 0,01) com o nível de TCS, DCP, 2-PP e 4-PP nas primeiras amostras de urina da manhã, não há correlação para 24h. O BPA urinária global : negativamente correlacionada com a idade da criança. Nenhuma diferença global significativa de género na excreção de BPA em cada grupo etário. |
| Frederiksen (2013b) ⁽⁴⁹⁾ => descritivo observacionais | Urinary excretion of phthalate metabolites, phenols and | Analisar e avaliar por idade, sexo e área de vida os níveis urinários de 15 metabolitos de ftalatos | Crianças (6-11 anos) e as suas mães recrutadas na área urbana (N = 70) e rural (N = 75). A mãe e a criança saudáveis e vivido na zona durante um | Detectados em 97% das mães e 93% das crianças. Na criança : amplo intervalo, 500 vezes acima do valor mediano para a concentração de BPA | Correlações significativas entre mães e seus filhos para quantidade de BPA não ajustada ou ajustada à creatinina. Sem diferenças entre zonas urbanas e rurais. |

| | | | | | |
|---|---|---|---|--|---|
| | parabens in rural and urban Danish mother-child pairs | de oito diésteres de ftalatos, sete parabenos e nove fenóis selecionados, incluindo BPA, TCS e BP-3 em 145 pares mãe-filho saudáveis de zonas urbanas e rurais da Dinamarca. | mínimo de 5 anos. 288 amostras de urina. | (ng/mL) e 250 vezes acima do valor mediano para a concentração ajustada de creatinina ($\mu\text{g/gcrea}$). Diferenças significativamente maiores da quantidade total excretada por peso corporal por dia com base na concentração urinária ajustada de creatinina (ng/kg/dia) em crianças em comparação com as suas mães. | Com os níveis de creatinina ajustados de BPA : -na urina das crianças, o BPA significativamente correlacionada com ftalatos (MEP, MBzP, DiNPm e DEHPm), e com fenóis (2-PP) ; -na urina materna BPA significativamente correlacionados com parabenos (n-PrP) e com fenol (2,5-DCP). Correlação positiva entre a idade materna e a creatinina ajustada, mas não desajustada dos níveis urinários de BPA. A dose diária estimada de BPA calculada a partir das concentrações urinárias ajustadas de creatinina é maior para a criança da zona rural do que para a mãe da zona urbana. |
| Moos (2014) ⁽⁵⁰⁾ => descritivo observacionais | Rapid determination of nine parabens and seven other environmental phenols in urine samples of German children and adults | Apresentar um método LC/LC-MS/MS com diluição isotópica para avaliar exposições de fontes ambientais, utilização de produtos de cuidados pessoais e exposições profissionais. | 118 primeiras amostras de urina matinal dos pares mãe-filho da população alemã em geral e que não se sabe estarem profissionalmente expostos aos parabenos e outros fenóis. 59 mães (29-48 anos (mediana 40 anos)) e as 59 crianças (6-8 anos (mediana 6,5 anos)) | Detectada em 95% das amostras. Concentração mediana : 2.2 $\mu\text{g/L}$ (percentil 95 6,5 g/L) e a concentração mediana ajustada e de 1,9 $\mu\text{g/g}$ creatinina. | A concentração de BPA em $\mu\text{g/L}$ nas crianças : ligeiramente mais elevada. Diferenças entre mães e filhos bastante pequenas. |
| Cutanda (2014) ⁽⁵¹⁾ => cross sectional | Urinary levels of eight phthalate metabolites and bisphenol A in mother-child pairs from two Spanish locations | Avaliar padrões de exposição a ftalatos e bisfenol A numa amostra piloto de mães espanholas e seus filhos, e fornecer informação básica para abordar prioridades em futuros investigação. | Primeiras amostras de urina de manhã de 120 pares mãe-filho (60 urbanos e 60 rurais). Crianças dos 6 aos 11 anos de idade | As crianças nas zonas rurais : GM mais elevados para BPA: 1,59 micrograma/gcrea (95% CI: 1,06-2,38). | Não há diferenças significativas entre os urbanos e rurais para as mães, mas há para crianças ($p=0,024$). A alimentação na cantina : fator significativo na exposição BPA para mães e crianças urbanas. O uso de luvas de plástico : fator nas mães. Níveis de BPA das mães em correlação com os dos seus filhos. BPA associada à soma de metabolitos secundários de DEHP, MiBP e MnBP para mães urbanas, e apenas com MBzP para os seus filhos. MiBP e MnBP correlacionados com BPA para crianças rurais. |

| | | | | | |
|---|--|---|--|--|---|
| <p>Pell (2017) ⁽⁵²⁾ => cohort</p> | <p>Parental Concern about Environmental Chemical Exposures and Children's Urinary Concentrations of Phthalates and Phenols</p> | <p>Examinar se as preocupações dos pais sobre exposições químicas ambientais estavam associadas a concentrações de ftalato urinário e fenol nos seus filhos em idade escolar.</p> | <p>218 crianças que completaram o acompanhamento aos 8 anos de idade e que dispunham de dados biomarcadores urinários e dados covariáveis (educação materna, raça/etnia materna, rendimento familiar, sexo e idade das crianças), e cujas mães exprimem a sua preocupação com as exposições químicas ambientais sobre a saúde dos seus filhos.</p> | <p>Concentração urinaria de BPA : mediana = 1,6 ng/mL.</p> | <p>Sem ajuste para fatores de confusão, filhos de pais preocupados com a exposição a produtos químicos : níveis significativamente mais baixos de BPA na urina do que os filhos de pais que não estavam preocupados. Com ajustamento para covariantes, concentrações de BPA urinária : 13% mais baixas em filhos de pais preocupados com a exposição química do que em filhos de pais não preocupados (GM 1,8 vs 2,1 ng/mL). Concentrações urinários sem diferença em crianças cujos pais tinham preocupações específicas sobre plásticos, ftalatos ou fenóis do que em crianças de pais preocupados sem preocupações específicas sobre estes químicos.</p> |
|---|--|---|--|--|---|

Tabela 6- Dados e resultados extraídos dos estudos incluídos sobre a influência do BPA na etiologia da MIH

| Autor (ano) => Tipo de estudo | Título do artigo | Objectivos | Participantes (Animais e Amostras Biológicas) e método | Resultados |
|--|--|---|---|---|
| Jedeon (2013) ⁽³⁸⁾ => estudo clínico randomizado controlado | Enamel defects reflect perinatal exposure to bisphenol a | Avaliar o possível efeito do BPA no desenvolvimento do esmalte e elucidar qualquer mecanismo de ação subjacente | <p>32 ratos Wistar Han :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 16 expostos : administração oral diária a 5 µg/kg de BPA em 0,5 ml de óleo de milho in útero e após o nascimento. - 16 do grupo de controlo : administração apenas de óleo de milho. <p>Dentes de MIH Pacientes e dentes de controlo obtidos após extracção electiva, foram recolhidos (n = 10) e comparados ao correio de ratos.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Células ameloblásticas HAT-7 de ratos | <p>Dentes humanos MIH e incisivos de rato tratados com BPA mostram manchas brancas assimétricas.</p> <p><u>Dia 30:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - 75% ratos tratados com BPA : incisivos com manchas brancas, simétricas ou assimétricas, defeitos variando entre um terço ou menos da superfície do dente afetado até a quebra do esmalte. Fenótipo consistente com MIH humana (quebras do esmalte nas áreas onde os dentes ocluem) - Ratos de controlo: esmalte amarelo a laranja de forma homogénea sem defeito. <p><u>Dia 100:</u></p> <p>Incisivos dos ratos tratados com BPA não são afetados e não diferem dos controlos.</p> <p>Rácios Ca/C e Ca/P : mais baixos nos dentes MIH e ratos tratados do que controlo. BPA aumenta o conteúdo de albumina em ratos.</p> <p>Em ratos tratados com BPA e em células ameloblastos HAT-7, a expressão de mRNAs para :</p> <ul style="list-style-type: none"> - o enamulina é significativamente aumentado na fase de secretariado - Kik4 é significativamente reduzido na fase de maturação. |
| Jedeon (2014a) ⁽³⁹⁾ => estudo clínico randomizado controlado | Enamel hypomineralization due to endocrine disruptors | Avaliar os efeitos da combinação de Genistein, Vinclozolina e BPA no esmalte dentário | <p>Desde o dia gestacional 1 até ao desmame (P21), as fêmeas grávidas eram administradas oralmente um dos tratamentos seguintes diariamente: G/V, BPA, G/BPA, V/BPA, G/V/BPA em doses de 1mg/kg/dia G, 10mg/kg/dia V e 5 mg/kg/dia BPA em 0,4 mL/kg de óleo de milho; o grupo de controlo foi administrado apenas óleo de</p> | <ul style="list-style-type: none"> - <u>Ratos expostos aos EDCs</u> : opacidades brancas nos seus incisivos mandibulares. Prevalência do grupo exposto ao BPA: 75% com distribuição anárquica de manchas brancas, em alguns casos assimétrica e com perda de substância dentária. Prevalência G/V grupo exposto: 37,5%. Prevalência G/BPA, V/BPA ou grupo exposto G/V/BPA: 50%. - <u>Os ratos de controlo</u> : incisivos castanhos-amarelados homogéneas. <p>Níveis de mRNAs EMPs (amelogenina, ameloblastina, amelotina, enamulina) e proteases (MMP-20 e Kik4):</p> <ul style="list-style-type: none"> - em ratos expostos às várias combinações de G, V e BPA: níveis de mRNA não são alterados. |

| | | | | |
|---|---|---|--|--|
| | | | <p>milho. Após o desmame : ratos jovens expostos diariamente às mesmas misturas até ao sacrifício em P30.</p> <p>Células ameloblásticas HAT-7 de ratos.</p> | <p>- em ratos expostos ao BPA: os níveis de mRNA aumentaram significativamente para enamelinina e diminuíram para o klk4.</p> <p>In vitro em células ameloblastos de rato HAT-7:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Níveis de mRNA enamelinina : não modulado por G, aumentado por BPA, diminuído por V - klk4 níveis de mRNA: não modulados por G ou V <p>- Atividade do promotora de enamelinina : não moduladas por G, significativamente reprimidas por V, significativamente induzidas por BPA</p> <ul style="list-style-type: none"> - Atividades do promotora de klk4: não modulado por G, não modulado por V, repressão significativa por BPA |
| <p>Jedeon, (2014b)⁽⁴⁰⁾ => estudo clínico randomizado controlado</p> | <p>Estrogen and bisphenol A affect male rat enamel formation and promote ameloblast proliferation</p> | <p>Investigar os efeitos do BPA nos ameloblastos e o possível envolvimento da via de sinalização dos estrogénios.</p> | <p>32 ratos Wistar Han :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 16 expostos : administração oral diária a 5 µg/kg de BPA em 0,5 ml de óleo de milho in útero e após o nascimento até ao sacrifício em P30. - 16 do grupo de controlo : administração apenas de óleo de milho até ao sacrifício em P30. <p>Células ameloblásticas HAT-7 de ratos.</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Incisivos de ratos de controlo: uniformemente amarelo a laranja. - Incisivos de ratos tratados com BPA: diferentes graus de manchas brancas simétricas ou assimétricas no esmalte, em 75% dos ratos machos e 31% dos ratos fêmeas. - Fase de secreção ameloblástica de ratos machos tratados com BPA mais longa do que a dos ratos de controlo. Nenhuma diferença para ratos fêmeas tratadas com BPA. <ul style="list-style-type: none"> - Comprimento total do incisivo: nenhuma diferença significativa - Comprimento do laço cervical: significativamente maior em ratos tratados com BPA do que em ratos de controlo. <p>BPA induz a proliferação de ameloblastos in vitro e in vivo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - In vitro após 24 e 48 horas de tratamento com BPA: aumento significativo do número de células HAT-7 viáveis (ensaio MTT) e 2,3 vezes mais atividade proliferativa para ameloblastos tratados do que para células de controlo (ensaio de proliferação de BrdU) - In vivo: níveis de mRNA PCNA no laço cervical significativamente mais elevados (1,75 vezes) em ratos tratados com BPA do que em controlos (teste RT-qPCR) <p>Os efeitos do BPA na proliferação ameloblastica são parcialmente mediados pelo receptor de estrogénio ERα e E2 induz a proliferação ameloblastica através da via ERα em células HAT-7.</p> <ul style="list-style-type: none"> - ERα : expressão nos epitélios dentário em níveis semelhantes em machos e em fêmeas. A expressão era mais elevada no laço cervical e não era afetada pelo tratamento com BPA. - Os epitélios dentários de ratas não expressam ERβ |

| | | | | |
|---|---|--|---|---|
| | | | | <ul style="list-style-type: none"> - Células HAT-7: mRNA ERα mas não mRNA para ERβ, e não expressavam nem ERRγ nem GPR30. - Número de células viáveis em amostras (ensaios MTT) e actividade de proliferação em amostras (ensaios de proliferação de BrdU) : amostras de controlo < tratadas tanto com ICI como com BPA < BPA apenas A combinação de BPA e estrogénio aumenta substancialmente a proliferação ameloblástica nas células HAT-7 : - A proliferação de ameloblastos em amostras tratadas com : BPA sozinho (2,4 vezes) < E2 sozinho (3,7 vezes) < combinação de BPA e E2 (7,2 vezes superior ao controlo). - O pré-tratamento com ICI diminuiu este efeito mas não o aboliu completamente; a proliferação de amostras tratadas com ICI foi superior à dos controlos. |
| Jedeon (2016) ⁽⁴¹⁾ => estudo clínico randomizado controlado | Impact of three endocrine disruptors, bisphenol a, genistein and vinclozolin on female rat enamel | Responda à pergunta: Os dentes das mulheres são afectados da mesma forma que os dos homens após a exposição, nas mesmas condições, aos mesmos EDCs ? E se não, qual é a explicação subjacente? | Desde o primeiro dia de gestação até ao desmame (P21), as fêmeas grávidas receberam diariamente um dos seguintes tratamentos por via oral: G/V, BPA, G/BPA, V/BPA, G/V/BPA em doses de 1 mg/kg/dia de G, 10 μ g/kg/dia de V e 5 μ g/kg/dia de BPA em 0,4 mL/kg de peso corporal de óleo de milho; o grupo de controlo recebeu apenas óleo de milho. Após o desmame, as ratas jovens foram expostas diariamente às mesmas misturas de forma semelhante até ao sacrifício em P30. | <ul style="list-style-type: none"> - Incisivos de ratos de controlo: homogéneos amarelo-acastanhados - Incisivos de ratos expostos a EDCs: distribuição anárquica de manchas brancas Grupo exposto apenas ao BPA : prevalência de 31%. Grupo exposto a G/V, G/BPA, V/BPA, G/V/BPA : prevalência de 20% <p>mRNA que codifica as principais EMPs (amelogenina, ameloblastina, amelotina, enamelin), e as proteases, Mmp20 e Kik4) extraídas do epitélio dentário microdissecado de ratos fêmeas e analisadas por RT-qPCR: nenhuma diferença significativa na expressão dos genes do esmalte nos diferentes grupos tratados em comparação com o grupo de controlo</p> |
| Jedeon (2016) ⁽⁴²⁾ => estudo clínico randomizado | Chronic exposure to bisphenol A exacerbates dental fluorosis in | Analisar as várias formas de hipomineralização do esmalte, e caracterizar os | Fêmeas grávidas foram divididas em dois grupos, e recebidas desde o primeiro dia de gestação até ao desmame das crias (P21): - Grupo BPA: dose oral diária de 5 | <p>BPA agrava a hipomineralização do esmalte induzida por NaF:</p> <ul style="list-style-type: none"> - em ratos tratados com NaF de 5 mM: fluorose típica do esmalte com bandas brancas e laranjas alternadas. - em ratos expostos ao BPA: fenótipo moderado com 12,5% de degradação do esmalte - em ratos expostos ao NaF e BPA: um fenótipo mais severo do que os expostos apenas ao NaF, |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| controlado | growing rats | genes envolvidos neste processo para determinar os mecanismos envolvidos nas rupturas da amelogenese. | <p>µg/kg/dia BPA</p> <ul style="list-style-type: none"> - As fêmeas do grupo de controlo receberam apenas óleo de milho. <p>Após o desmame, e até à morte em P65: quatro grupos (n=12 cada):</p> <ul style="list-style-type: none"> - 5 µg/kg/dia BPA só - 5 mM NaF só - 5 µg/kg/dia BPA e 5 mM NaF - grupo de controlo: solvente sozinho <p>Depois seleccionados aleatoriamente de cada grupo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Quatro ratos para análise histológica - Outros quatro ratos para análise por microtomografia (µCT) e microscopia electrónica de varrimento (SEM). - Quatro ratos para dissecação de incisivos, tecido epitelial e para extracção de RNA. | <p>com descoloração mais pronunciada dos incisivos (semelhante à observada com doses mais elevadas de NaF)</p> <p>análise µCT: em ratos expostos apenas ao BPA ou em combinação com NaF: densidade e volume de esmalte significativamente inferiores aos dos animais de controlo</p> <p>Análise SEM: em ratos expostos ao BPA e ratos tratados com BPA e NaF: estrutura prismática subjacente de esmalte mascarado por uma cobertura orgânica magmática (ausente nos grupos de controlo e tratados com NaF).</p> <p>Microdissecção do epitélio dentário de acordo com a fase de diferenciação do ameloblastos (etapa de laço, secretória ou maturação) e análise da expressão do gene da matriz do esmalte por RT-qPCR:</p> <ul style="list-style-type: none"> - durante a fase de secreção (S) o mRNA de amelogenina (Amelx) era >250 vezes mais elevado e o de enamina (Enam) era 1200 vezes mais elevado do que durante a fase de maturação (M). - A combinação de NaF e BPA afeta expressão do gene ameloblast em maior medida do que apenas BPA ou NaF. - A expressão de Slc26a4, e Slc5a8 : upregulada por cada molécula e ainda mais pela combinação de NaF e BPA. - exposição ao NaF e à BPA Klk4 e Mmp12 desregulada em maior medida do que a exposição apenas ao NaF <p>Alterações no nível de EMP (AMELX e ENAM): aumentam quando tratadas apenas com BPA ou em combinação com NaF na fase de secreção ou de maturação precoce.</p> <p>Alterações no nível de proteases (MMP9, MMP12 e KLK4): maior no ameloblastos maduros do que nos ameloblastos secretos e menor na presença de NaF ou BPA mas não em combinação.</p> |
| Jedeon, (2016) ⁽⁴³⁾ => estudo clínico randomizado | Androgen receptor involvement in rat amelogenesis: an additional way for endocrine-disrupting | investigar sistematicamente os receptores de esteróides que pudessem mediar os efeitos de BPA | 8 ratos por grupo (ou veículo injectado utilizado como controlo, ou injectado com 10 mg/kg de T, ou ratos não castrados e não tratados). | <p>Ameloblastos de células epiteliais dentárias de rato expressos em níveis semelhantes de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sem ERβ - ERα: principalmente em ameloblastos em fase inicial e em mesênquima dentária e epitélio - PGR expresso através de amelogenese e em mesênquima dentária e epitélio |

| | | | | |
|---|--|--|---|---|
| controlado | chemicals to affect enamel synthesis | e outros EDCs durante a amelogénese. | Células ameloblasto HAT-7 de ratos | <p>AR :</p> <ul style="list-style-type: none"> - qPCR e testes de imunofluorescência: mais elevada em ameloblastos de maturação do que em ameloblastos precoces (7,3 e 11,0 vezes respectivamente) - PGR e ER muito inferiores à AR, independentemente da fase de diferenciação - Sinal AR detectado no citoplasma das células epiteliais dentárias e translocação nuclear de AR 1 hora após tratamento T em células ameloblásticas de rato HAT-7 <p>Actividade promotora de MMTV induzida por T de uma forma dose-dependente.</p> <p>Modulações da expressão do gene do esmalte por andrógenos e antiandrógenos :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Repressão (1,8 vezes mais baixa) em ratos castrados do que em ratos não castrados. - Expressão KLK4 mRNA: significativamente aumentado em ameloblastos maduro após tratamento com T <p>Expressão de outros genes alvo do esmalte BPA após 10 mg/kg T :</p> <ul style="list-style-type: none"> - SLC26A4 aumentou 10,8 vezes e SLC5A8 aumentou 4,3 vezes - A amelotina diminuiu 1,5 vezes - Amelogenina e esmalina: sem alterações observáveis <p>Efeitos antiandrogénicos da vinclozolina e do BPA em ameloblastos de rato in vivo e em linhas celulares:</p> <ul style="list-style-type: none"> - impedimento da translocação nuclear de AR induzida por T. - impedimento da indução T da actividade promotora da MMTV contendo ARE de forma dose-dependente nas células ameloblasto HAT-7 |
| Houari (2016) ⁽⁴⁴⁾ => estudo clínico randomizado controlado | Expression of Steroid Receptors in Ameloblasts during Amelogenesis in Rat Incisors | Investigar os receptores conhecidos para mediar direta ou indiretamente os efeitos do BPA, a fim de explorar as vias moleculares | <ul style="list-style-type: none"> - Três grupos de três ratos machos de 30 dias - Três outros grupos semelhantes de ratos fêmeas <p>Células epiteliais dentárias das fases de secreção e maturação</p> | <p>qPCR células de esmalte de rato expressas durante a amelogénese :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Os machos e fêmeas : níveis semelhantes - ERβ: indetectável em todas as fases da amelogénese - ERα: perfil variável dependendo do animal, mas principalmente expresso no <u>laço cervical</u>. - ERRγ: principalmente em ameloblastos de fase inicial, 5,0-6,7 vezes mais elevado no <u>laço cervical</u> do que nas fases de secreção e maturação - GPR30: principalmente em ameloblastos em fase inicial, no <u>laço cervical</u> - ERRα e ERRβ : expresso através da amelogénese com uma acumulação de 3,6 vezes e 1,3 vezes |

| | | | | |
|--|---|---|---|---|
| | | estimuladas pela BPA durante a amelogénese | dissecadas separadamente | respectivamente em ameloblastos em <u>fase de maturação</u> Padrão de expressão de receptores de esteróides e receptores retinóides adicionais durante a amelogénese: - Sem grandes diferenças entre machos e fêmeas - AR: localização altamente específica, restrita a ameloblastos de maturação (x7,3) - PGR, GR (x2,6), MR, VDR, RXR α : expresso principalmente em ameloblastos maduros |
| Houari (2018) ⁽⁴⁵⁾ => estudo clínico randomizado controlado | Micro-dissection of enamel organ from mandibular incisor of rats exposed to environmental toxicants | Descrever um método fiável e consistente de microdissecção do órgão de esmalte de ratos expostos a substâncias tóxicas para o ambiente. | Quatro grupos de ratos Wistar machos: 1- de P0 a P65: controlo: só óleo de milho 2- de P0 a P21: controlos, depois de P21 a P65: 5 mM só de NaF 3- De P0 a P65: diariamente e oralmente 5 µg/kg BPA em 0,5 ml de óleo de milho 4- De P0 a P65: 5 µg/kg BPA, depois de P21 a P65: 5 µg/kg BPA e 5 mM NaF | - Incisivo de rato : um modelo adequado para estudar a amelogénese (contém todas as fases de proliferação/diferenciação de ameloblastos). - Microdissecção do esmalte do incisivo do rato pode ser separado de acordo com a fase de diferenciação dos ameloblastos (caracterizado por perfis específicos de expressão genética) e permite a localização de proteínas específicas (expressas pela secreção ou maturação dos ameloblastos). - A qualidade da microdissecção pode ser verificada através da coloração Trichrome Masson - Observação microscópica: células epiteliais típicas do esmalte e uma paliçada de ameloblastos. - Os tecidos microdissecados podem ser utilizados para análises qualitativas (IHC e ISH), e quantitativas (R-qPCR, RNA-seq e Western blotting). - O receptor de androgénio : especificamente localizado em ameloblastos de maturação. - ameloblastos da fase secretoria expressas: enamulina - Os ameloblastos maduros : expressão KLK4 e contêm níveis elevados de ferritina. - Perturbação da amelogénese por fluoreto. Desregulamentação do KLK4 do órgão do esmalte na fase de maturação - 26,7% das crianças em idade escolar tinham MIH. |
| Elzein (2020) ⁽⁵³⁾ => estudo de casos-controlos e investigação cega participante | Molar-incisor hypomineralisation in Lebanon: association with prenatal, natal and postnatal factors | Investigar a associação da MIH com fatores pré-natais, natais e pós-natais entre crianças libanesas de 7-9 anos. | 659 alunos libaneses com 7-9 anos selecionados para o diagnóstico MIH utilizando o índice MIH descrito por Ghanim et al. (2015), e depois completados um questionário sobre possíveis fatores etiológicos nos períodos pré-natais, natais e pós-natais. | - Análise univariada pré-natal: associação positiva significativa entre a MIH e as crianças cujas mães tinham consumido alimentos e bebidas enlatadas durante a gravidez (2,9 vezes mais susceptíveis de serem afetadas) - Análise univariada pós-natal: associação positiva significativa entre a MIH e crianças que tinham sofrido de otite média, febre alta (2,057 vezes mais susceptível de ser afetada), que tinham estado sob tratamento antibiótico (2,15 vezes mais susceptível de ser afetada) e cujas mães tinham consumido comida e bebida enlatada durante a alimentação. |

5. Discussão

Esta revisão sistemática teve como objetivo debater a temática do BPA que pode ser um agente causador na etiologia MIH humana.

5.A- BPA em crianças e mulheres grávidas

A fim de cumprir os objetivos propostos e depois de se ter sublinhado o que é o BPA, iremos verificar como pode contaminar os pacientes odontopediátricos, e serão comparados dados sobre as diferentes percentagens da população contaminada ao BPA através da biomonitorização. Sabendo que as autoridades sanitárias europeias legislaram sobre a dose diária admissível (TDI), analisaremos os dados sobre a resposta à dose não-monotónica do BPA. Em segundo lugar, iremos comparar os dados dos artigos selecionados nesta revisão sistemática, sobre as concentrações de BPA observadas nas diferentes populações e as informações que delas se poderiam deduzir. Finalmente, se a contaminação for de natureza industrial, veremos se o estilo de vida pode ter um impacto.

5.A.1- Bisfenol A : um desregulador endócrino ubíquo

5.A.1.a- Bisfenol A

O BPA (4,4'-isopropylidenediphenol) é uma das únicas moléculas não medicinais fabricadas classificadas pela Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA) como um conhecido desregulador endócrino para a saúde (em 2017) e para o ambiente (em 2018). A utilização de BPA na UE está estimada em cerca de 1.149.870 toneladas/ano, e os benefícios associados à sua utilização estão estimados em 2,4 milhões de dólares por hora. Esta molécula, uma das substâncias químicas de maior volume produzidas em todo

o mundo, com mais de $2,7 \times 10^{12}$ quilograma produzidas por ano, é omnipresente nas nossas vidas.⁽²⁷⁾

Os bisfenóis são utilizados na produção de plástico policarbonato e resinas epoxídicas, que têm muitas aplicações em produtos de consumo, tais como recipientes em contato com alimentos (revestimentos protetores no interior de recipientes metálicos para alimentos), como no caso de biberões para bebés, algumas garrafas de água, e tampas de garrafas. Podem ser utilizadas em adesivos e revestimentos protetores, em equipamento de segurança resistente ao impacto, em selantes dentários e papel térmico.⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾⁽⁵⁴⁾

O Relatório de Avaliação de Riscos da União Europeia⁽²⁸⁾ fornece informações sobre a potencial exposição ao BPA, na qual é explicado que o BPA é contido ou gerado a partir de uma matriz de polímeros. A potencial exposição do consumidor só pode ocorrer em condições em que :

- o monómero residual na matriz do polímero torna-se disponível para exposição,
- quando ocorre a degradação do polímero, para gerar monómero adicional que está disponível para exposição. ⁽²⁸⁾

Nos produtos utilizados para aplicações que envolvem o contato direto com alimentos, a migração de BPA destes produtos para os alimentos ou bebidas neles armazenados pode ocorrer se forem criadas certas condições (alta temperatura ou pH extremo) que permitam a hidrólise do polímero durante o armazenamento ou se houver monómero residual no polímero. Portanto, os produtos com maior potencial de exposição são aqueles em que a migração do BPA do polímero para o alimento com o qual está em contato ocorre facilmente, como aqueles : recipientes para alimentos e bebidas com revestimento interno de resina epoxídica e loiça e biberões em policarbonato (utilizados para fórmulas infantis).⁽²⁸⁾ O consumo do alimento ou bebida resultará então na ingestão de BPA. ⁽²⁸⁾⁽⁵⁵⁾⁽⁵⁶⁾⁽⁵⁷⁾⁽⁵⁸⁾⁽⁵⁹⁾⁽⁶⁰⁾

Para além de produtos relacionados com alimentos, o BPA de PVC é utilizado no fabrico de produtos médicos para recém-nascidos. Estes incluem: sacos contendo líquidos intravenosos e nutrição parenteral total e os tubos associados à sua administração; tubos de alimentação nasogástrica e enteral; máscaras respiratórias e tubos endotraqueais; e cateteres umbilicais utilizados em unidades de cuidados intensivos neonatais (UCIN).⁽²⁹⁾

Convém notar que mesmo que a inalação e exposição dérmica seja considerada insignificante ⁽²⁸⁾, outras pesquisas sobre o assunto podem ser interessantes de realizar. Especialmente que Cutanda (2014) encontram uma associação entre uma exposição ao BPA e o uso de luvas de plástico.⁽⁵¹⁾

Uma vez que a contaminação é principalmente através de alimentos e embalagens de alimento, 80% da contaminação total por BPA resulta da exposição oral.

Sobre a farmacocinética, o BPA ingerido entra na circulação sanguínea quer por absorção sublingual direta ⁽⁶¹⁾ ou por filtração intestinal. Após desintoxicação hepática e filtração renal, o BPA-glucuronida é excretado na urina.⁽⁵⁴⁾⁽⁶²⁾⁽⁶³⁾⁽²⁹⁾⁽³³⁾ Assim, concentrações elevadas de BPA na urina e/ou no sangue podem refletir uma elevada exposição ao BPA.

5.A.1.b- Biomonitorização humana e liquid chromatography-tandem mass spectrometry

A utilização generalizada do BPA, através da sua presença em produtos de cuidados pessoais, alimentos (intencional ou não) e outras aplicações, resulta em exposições que podem ocorrer globalmente e através de múltiplas vias de absorção (dérmica, ingestão e inalação).

Embora, como acima referido, a exposição ao BPA seja principalmente através da via oral, deve notar-se que determinar a exposição por meios convencionais de avaliação da exposição pode ser enfadonho e susceptível de erro. Por meios convencionais de avaliação entendemos: medições em meios ambientais, produtos de cuidados pessoais e alimentos; recolha de dados de questionários sobre estilo de vida pessoal, utilização de produtos de consumo alimentar; estimativas de tempos de contato e quantidades de ingestão. No entanto, os erros devidos à falta de conhecimento, por exemplo, de fontes e vias de exposição relevantes, podem ser um problema real.

É neste contexto que a biomonitorização humana assume toda a sua importância. Essa alternativa é definida como a determinação de substâncias químicas ou dos seus metabolitos em tecidos humanos, como o sangue humano, urina, leite materno, ou outros fluidos ou tecidos, como uma medida integral de exposição. Permite a avaliação das

exposições mesmo quando a quantidade e qualidade das exposições externas são desconhecidas ou ambíguas. ⁽⁵⁴⁾⁽⁵⁸⁾⁽⁵⁹⁾

O método de cromatografia líquida de alto desempenho (TurboFlow-LC–MS/MS) com diluição isotópica é utilizado para avaliar as exposições resultantes de exposições ambientais, a utilização de produtos de cuidados pessoais e exposições profissionais.

Ao aplicar este método a amostras de urina de crianças e adultos, é possível determinar fenóis ambientais como o BPA na urina numa vasta gama de concentrações.

Esta técnica rápida, robusta e fiável é utilizada para calcular as concentrações de BPA por cinco artigos selecionados nesta revisão : Callan (2012)⁽⁴⁷⁾, Frederiksen (2013a)⁽⁴⁸⁾, Frederiksen (2013b)⁽⁴⁹⁾, Moos (2014)⁽⁵⁰⁾ e Cutanda (2014)⁽⁵¹⁾.

5.A.1.c- Percentagem da população odontopediátrica com concentrações de BPA na sua urina

Utilizando a biomonitorização, a análise da excreção urinária revelou que o BPA está presente em amostras de urina de 83 a 97% da população, dependendo dos estudos selecionados nesta revisão sistemática.

De facto, a percentagem da população com concentrações de BPA na sua urina acima do limite de detecção (LOD) é de 82,9% para crianças dos 6 aos 21 anos, 93% das crianças dos 6 aos 11 anos e 97% das suas mães ; como Frederiksen destacaram nos seus dois estudos sobre populações dinamarquesas publicados em 2013⁽⁴⁸⁾⁽⁴⁹⁾. Estas percentagens da população com uma concentração de BPA na sua urina acima do LOD são consistentes com as investigações de Callan (2012) e de Moos (2014). Respectivamente, a frequência de detecção é de 84,6% em mulheres grávidas australianas⁽⁴⁷⁾ e 95% em crianças e mães alemãs⁽⁵⁰⁾. Cutanda (2014)⁽⁵¹⁾ detecta BPA em 97% das amostras de urina dos pares mãe-filho espanhol. Como os bifenóis são produtos químicos não persistentes, estes números apontam para uma exposição omnipresente e ubíqua.

Para além dos estudos analisados nesta revisão sistemática, outros estudos mostram uma concentração de BPA na urina que se correlaciona com os resultados apresentados acima. Mencionamos aqui: Calafat e al. (2005)⁽⁶³⁾ que detectaram BPA em 95% das amostras de urina de 394 sujeitos da população dos Estados- Unidos da América em geral. Todos estes estudos confirmam a exposição omnipresente e bastante uniforme a este produto químico em todo o mundo.

Embora a LOD seja regularmente de $0,12 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, é preciso lembrar que que pode ser diferente dependendo do método de detecção escolhido pelos estudos. Esta é uma das razões para as variações na percentagem de detecção de BPA na urina.

No entanto, saliente-se que, apesar das variações, quase todos os estudos estimam que mais de 80% da população tem BPA na sua urina. Como resultado, os legisladores da União Europeia têm-se debruçado sobre o assunto.

5.A.1.d- EFSA 2015 : propõe um novo TDI na base do princípio Paracelsus

Após os resultados do “EFSA’s 2015 risk assessment of BPA”, com base em novos dados e metodologias, a EFSA (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar) reduziu em doze vezes e meia o nível seguro estimado de BPA, conhecido como a dose diária admissível (TDI).

A TDI é definida como a quantidade estimada de uma substância química que pode ser ingerida diariamente ao longo de uma vida sem representar um risco significativo para a saúde. As TDI são expressas por peso corporal, geralmente em miligramas ou microgramas (da substância) por quilograma de peso corporal, e por dia no caso de exposição repetida.⁽⁶⁴⁾

A atual TDI para o BPA foi estabelecida em janeiro de 2015 pela EFSA com um limiar de 4 microgramas por quilograma de peso corporal por dia.

No entanto, é de notar que a TDI da EFSA é temporária. Além que esse cenário não teve em conta a vulnerabilidade à exposição ao BPA durante o desenvolvimento pré-natal e neonatal. ⁽⁶⁴⁾

Por outro lado, a TDI implica de forma implícita que não existe risco sanitário a níveis mais baixos do que os estabelecidos, o princípio do envolvimento de Paracelsus de "a dose faz o veneno", segundo o qual quanto maior for a dose, maior será o efeito.

A dose baixa foi definida na Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA), o Programa Nacional de Toxicologia (NTP) reuniu um grupo de cientistas em 2001 como quaisquer efeitos biológicos que ocorram na gama de exposições humanas típicas ou que ocorram em doses inferiores às tipicamente utilizadas na avaliação toxicológica tradicional. ⁽⁶⁵⁾

Como a toxicologia tradicional considera que a dose produz veneno, os estudos toxicológicos têm-se concentrado na identificação das concentrações em que os produtos químicos podem causar alterações biológicas, e abaixo disso os níveis não são prejudiciais para a saúde. Mesmo que muitos estudos experimentais tenham sido relatados sobre os efeitos de baixa dose de BPA ⁽⁶⁶⁾⁽⁶⁷⁾⁽⁶⁸⁾, contudo, ainda existe controvérsia sobre os efeitos de baixa dose de BPA devido à dificuldade de replicação.

A dose baixa não é o mesmo que a não-monotonicidade. A relação dose monotónica de resposta é a abordagem básica da toxicologia tradicional. Em contraste com a abordagem toxicológica tradicional, estudos recentes sugerem que os EDCs podem mostrar a não-monotonicidade, incluindo curva de resposta em U bifásico, em U ou em U invertido ⁽⁶⁶⁾. A ausência de relação dose-resposta monotónica torna difícil prever os efeitos na saúde em doses baixas utilizando o resultado de desreguladores endócrinos de dose elevada.

Mas uma das atuais controvérsias sobre o BPA é a possível violação do princípio de Paracelsus. Como o BPA se enquadra na categoria de produtos químicos desreguladores endócrinos, pode causar uma resposta não-monotónica à dose e a resposta pode ser maior em doses mais baixas. Vários estudos em modelos animais demonstraram que são observados efeitos adversos na exposição a baixas doses de BPA, semelhantes às doses a que os humanos estão atualmente expostos. ⁽²⁷⁾⁽⁴⁰⁾⁽⁶⁶⁾⁽⁶⁹⁾

Se muitos estudos demonstraram que as doses de BPA abaixo da TDI atual causam efeitos significativos nos modelos animais, vamos agora analisar os níveis de BPA em pacientes odontopediátricos.

5.A.2- Concentração de BPA excretada nas urinas dos pacientes odontopediátricos ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

Estudos selecionados e analisados nesta revisão sistemática mostraram que o BPA ou BPA-monoglucuronide são excretados na urina dos pacientes odontopediátricos.

5.A.2.a- Excreções urinária de BPA em amostras de urina expressas em concentrações

A mediana das concentrações de BPA observadas nas urinas em $\times 10^{-6}$ g/L, varia de 1,37 (24h urinas) no estudo de Frederiksen (2013a), a 2,41 em Callan (2012) estudo. Os outros estudos encontram valores entre estas duas gamas : 2,2 Moos (2014)⁽⁵⁰⁾ ; 1,7 Frederiksen (2013b) ; 1,99 e 2,06 Frederiksen (2013a) ; e 2,0 em crianças espanholas segundo Cutanda (2014)⁽⁵¹⁾.

A média fornecida no estudo de Frederiksen (2013b) a 9 $\mu\text{g}/\text{L}$, para as crianças germânicas, enquanto Callan (2012) observa uma média geométrica de 1,63 $\mu\text{g}/\text{L}$ nas mulheres grávidas australianas.

A gama de concentrações de BPA observadas na urina é muito variável, dependendo do estudo. Enquanto o mínimo é constante (abaixo do LOD), o máximo tem variações de fator 145. De facto, a concentração máxima observada em $\times 10^{-6}$ g/L pelo Callan (2012) é de 5.66; em 2013 Frederiksen admite 24,3 (24h urina) então 91,5 e 130 (segunda urina da manhã e primeira urina da manhã respectivamente). Enquanto as crianças alemãs mostram um máximo de 822 $\mu\text{g}/\text{L}$.

Estes dados são consistentes com outros estudos realizados nos EUA e no Japão onde as concentrações médias de BPA (total) urinárias são reportadas para variar entre 1,2 e 3,5 $\mu\text{g}/\text{L}$.⁽²⁸⁾

5.A.2.b- A dose de ingestão diária média

As doses de ingestão diárias de BPA podem ser estimadas, usando a equação descrita por Ye e al. (2009) :

$$\text{Ingestão diária (em } \mu\text{g/kg pc/dia)} = \frac{\text{Concentração BPA na urina } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times \text{Volume de urina } \left(\frac{\text{L}}{\text{dia}}\right)}{F_{UE} \times \text{Peso corporal}}$$

onde F_{UE} é a fracção molar do composto de origem excretado como o metabolito urinário (para o BPA, $F_{UE} = 1$).

Callan (2012) referiu que a dose diária média calculada para os participantes durante o seu terceiro trimestre foi de 0,06 $\mu\text{g/kg/dia}$ (intervalo 0,01-0,14 $\mu\text{g/kg/dia}$). No estudo de Frederiksen (2013a), a exposição média diária de BPA foi de pelo menos 0,03 $\mu\text{g/kg/dia}$ e a dose máxima diária atingiu pelo menos 0,45 $\mu\text{g/kg/dia}$.

5.A.2.c- Padrões de exposição relacionados com a idade

Frederiksen (2013a), observa que as crianças mais novas estavam significativamente mais expostas ao BPA do que as mais velhas, o que está de acordo com a excreção relativa de BPA que foi significativamente mais elevada nas crianças do que nas mães no estudo de Frederiksen (2013b). Moos (2014)⁽⁵⁰⁾, confirma a observação de concentrações (em $\mu\text{g/L}$) mais elevadas de BPA em crianças alemãs do que em mulheres adultas.

A observação de uma diminuição das concentrações de BPA urinária relacionada com a idade está em conformidade com dois outros estudos dos EUA e da Alemanha. ⁽⁴⁸⁾⁽⁷⁰⁾ Esta diminuição pode ser explicada pelo facto de que, as crianças mais novas em geral consomem mais alimentos em relação ao peso corporal em comparação com os adolescentes. Por outro lado, a excreção relativamente maior de BPA por quilograma de peso corporal em crianças mais pequenas pode assim ser explicada por uma exposição alimentar oral relativamente maior ao BPA, embora isto não possa explicar completamente a maior quantidade absoluta excretada.

5.A.2.d- Níveis de exposição entre membros da família

Ao comparar os níveis de exposição ao BPA entre membros da família, investigadores de diferentes estudos observam uma correlação estatisticamente significativa positiva entre os níveis de urina das mães e dos seus filhos. Esta correlação entre as mães e os seus filhos é de facto o caso para Frederiksen (2013b)⁽⁴⁹⁾, e Cutanda (2014)⁽⁵¹⁾.

Correlações semelhantes foram também mostradas para BPA em estudos alemães de 104 pares mãe-filho (6-8 anos)⁽⁷⁰⁾, indicando que os membros da família partilham fontes de exposição para estes compostos.

5.A.2.e- Variações de acordo com a localização

No segundo estudo de Frederiksen que foi selecionado nesta revisão sistemática⁽⁴⁹⁾, compara-se a dose diária estimada de BPA ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$) dependendo da região (rural ou urbana). A mediana é inferior para as mães urbanas ($0,031 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$) do que para as crianças rurais ($0,043 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$).

Como Tang et al. (2012) notam, as concentrações de BPA na água potável na área poluída do rio SY foram significativamente mais elevadas ($p < 0,05$) em comparação com a área de controlo. Nota-se que os investigadores não efetuaram biomonitorização humana para estimar os níveis de BPA em tecido humano. Contudo, descobriram que as crianças na zona poluída que bebiam água potável contaminada ao BPA (média de $2,95 \mu\text{g}/\text{L}$) do rio Huai, tinham níveis significativamente mais elevados de estradiol do que as crianças na zona de controlo ($p = 0,002$ para rapazes e $p = 0,001$ para raparigas). As crianças na zona poluída têm níveis de testosterona significativamente mais elevados ($p = 0,016$ para rapazes e $p = 0,006$ para raparigas). E no que diz respeito aos resultados antropométricos, a espessura da dobra da pele (indicador utilizado para inferir o teor de gordura corporal e determinar o desenvolvimento de gordura subcutânea) teve uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, especialmente nas raparigas ($p = 0,003$).

Não havia genética, nutrição, exercício e outros fatores de confusão a ter impacto no

crescimento e desenvolvimento das crianças nas duas áreas e, as duas áreas tinham um desenvolvimento físico comparável das crianças. Por conseguinte, a diferença nos níveis de estradiol e testosterona das crianças entre as duas regiões pode estar relacionada com a poluição química. Isto confirma que os EDCs podem interferir com a composição e secreção das hormonas sexuais e que o BPA tem efeitos estrogénicos dose-dependentes.⁽⁴⁶⁾

5.A.2.f- Correlações observadas entre o BPA e diferentes metabolitos de ftalatos

Relativamente às associações entre o BPA e outros EDCs, de acordo com Cutanda (2014)⁽⁵¹⁾, as correlações observadas entre BPA e diferentes metabolitos de ftalatos diferem entre mães e crianças, e também entre as localizações. As associações mais notáveis ocorrem entre os metabolitos BPA e DEHP para mães urbanas e com MiBP e MnBP para crianças rurais.⁽⁵¹⁾

5.A.3- Exposição ao BPA por estilo de vida e de consumo

A exposição ao BPA ocorre em grande parte devido à ingestão dietética como resultado da sua utilização em materiais de embalagem de alimentos, incluindo os forros das latas de alimentos e recipientes de plástico.⁽⁵²⁾ Esta contaminação parece estar relacionada com o estilo de vida da população, uma vez que aqueles que limitam os produtos industriais, os alimentos e os hábitos estão menos contaminados.

Vários estudos sugerem que os pais preocupados com os efeitos dos químicos ambientais na saúde dos seus filhos podem fazer escolhas de estilo de vida que resultem numa menor exposição a certos fenóis.⁽⁵²⁾

Por exemplo, Pell (2017)⁽⁵²⁾ avaliaram se as concentrações urinárias de ftalatos e fenóis diferiam em crianças de 8 anos de idade, de acordo com a preocupação expressa pelos pais sobre os efeitos na saúde das exposições químicas ambientais. 122 de 218 pais (56%) manifestaram preocupação com os efeitos dos produtos químicos ambientais sobre a saúde dos seus filhos. As características socioeconómicas foram um fator importante, pois

era notável que: as crianças cujos pais ou cuidadores expressaram preocupação com os químicos ambientais eram mais prováveis do que aquelas que não, viviam num agregado familiar de elevado rendimento (53% vs. 28% com rendimentos superiores a 80.000 dólares) e ter uma mãe com um bacharelato ou superior (59% vs. 32%).

Os filhos de pais preocupados tinham níveis de BPA urinária 13% mais baixos do que os filhos de pais não preocupados. Note-se a correspondência destes resultados com as medidas estudadas antes de se ajustar aos fatores de confusão: os filhos de pais preocupados com a exposição a produtos químicos tinham níveis significativamente mais baixos de BPA na urina do que os filhos de pais não preocupados.

Estes resultados têm implicações nos estudos de produtos químicos ambientais e na saúde das crianças. De facto, se o conhecimento sobre a exposição ao BPA aumentar, os consumidores poderão fazer escolhas informadas sobre a forma de consumir. É aqui que entram os resultados de Cutanda (2014) que encontram uma associação entre BPA e o uso de luvas de plástico: sugerindo exposição dérmica.⁽⁵¹⁾ Embora a absorção de BPA seja considerada principalmente oral, pelo consumo de sopa enlatada e água de embalagens e garrafas contendo BPA que causa aumento nas concentrações de BPA urinário.⁽⁵⁵⁾⁽⁵⁶⁾⁽⁵⁷⁾⁽⁵⁸⁾⁽⁵⁹⁾⁽⁶⁰⁾

Em primeiro, a preocupação dos pais com a exposição a produtos químicos é uma variável importante a considerar na implementação de intervenções para reduzir as exposições a produtos químicos, uma vez que poderia modificar o seu efeito. Por exemplo, as famílias que não estão preocupadas podem beneficiar mais das intervenções para reduzir a exposição do que as famílias que já tentam ativamente reduzir a sua exposição.

Subsequentemente, os estudos etiológicos que quantificam os efeitos das exposições químicas ambientais na saúde infantil podem ter de se ajustar às preocupações dos pais, uma vez que é um potencial determinante das exposições das crianças e uma correlação de fatores de risco para várias doenças infantis (por exemplo, o estatuto socioeconómico).

Como acima mencionado, os fatores socioeconómicos podem estar associados tanto à preocupação dos pais como ao acesso a alimentos ou produtos sem EDCs. É neste sentido

que os estudos de intervenção sugerem que a exposição ao fenol poderia ser mitigada por alterações de comportamento a nível individual ou familiar.

No entanto, vários fatores podem influenciar a capacidade dos pais para reduzir a exposição dos seus filhos. Estes incluem: conhecimento das exposições ao fenol, conhecimento das intervenções comportamentais para reduzir a exposição, ou a capacidade dos indivíduos para controlar eficazmente a exposição.

Atualmente, existe uma lacuna na transmissão do conhecimento entre o que é conhecido dos estudos epidemiológicos e de intervenção sobre exposições químicas e a forma de aconselhar os pais e os pacientes nas instalações de cuidados de saúde sobre a redução das exposições dos seus filhos. Os riscos de saúde associados a estas exposições podem ser provocadores de ansiedade para as famílias, e pode ser difícil para os profissionais de saúde da comunidade acalmar as preocupações dos seus pacientes. No entanto, os clínicos em ambientes de cuidados de saúde devem ser encorajados a perguntar aos pais se têm preocupações e que intervenções podem tentar em casa.

Além disso, se existe uma proporção significativa de pais despreocupados em certas populações que poderiam beneficiar de conhecimentos adicionais sobre as exposições químicas ambientais e os seus potenciais efeitos na saúde, a interação com um clínico é ainda mais necessária. Poderia ser uma oportunidade de fornecer recursos educativos baseados em provas.

Para populações com um elevado nível de preocupação com aos EDCs, uma discussão com um clínico pode ser útil para identificar intervenções comportamentais úteis e aliviar a ansiedade.

5.A.4- Efeitos estabelecidos do BPA

BPA é de longe o mais estudado dos fenóis contudo embora exista controvérsia. O BPA foi inventado há cerca de 100 anos e reconhecida como um estrogénio fraco devido à sua

afinidade com o receptor estrogénico in vitro, desde no início dos anos 30. ⁽²⁴⁾⁽³⁴⁾⁽⁴⁹⁾⁽⁶²⁾
⁽⁷¹⁾⁽⁷²⁾⁽⁷³⁾

Em doses abaixo do putativo nível mais baixo de efeitos adversos observados, a exposição ao BPA resultou em: alterações no desenvolvimento, organização, e aumento do volume da glândula mamária e da próstata que podem predispor à neoplasia. Isto implicam correlações entre BPA e a proliferação celular e as vias moleculares envolvidas na patogênese do cancro da mama ⁽²⁶⁾⁽⁷⁴⁾, cancro endometrial ⁽⁶⁴⁾ e cancro da próstata. ⁽⁷³⁾ Também, o BPA pode ligar-se aos receptores da tiroide e influenciar as funções da tiroide devido aos seus efeitos agonísticos e antagónicos. Pode também interagir com o sistema imunitário e com o sistema nervoso central em desenvolvimento.⁽⁶⁸⁾ Outros estudos de investigação relatam perturbação da diferenciação sexual no cérebro, alteração das diferenças sexuais na exploração e respostas emocionais, e aceleração da puberdade nas fêmeas. Além disso, alterações comportamentais no rato: maternal, em resposta a estímulos provocadores de medo, ansiedade e memória espacial.
⁽⁷⁵⁾⁽⁷⁶⁾⁽⁷⁷⁾⁽⁷⁸⁾⁽⁷⁹⁾⁽⁸⁰⁾⁽⁸¹⁾⁽⁸²⁾⁽⁷²⁾⁽⁷¹⁾⁽⁸³⁾⁽⁸⁴⁾

Esta primeira parte da discussão permite-nos responder ao nosso primeiro objetivo secundário. De facto, como vimos anteriormente, a contaminação por BPA é principalmente oral após a ingestão de alimentos contaminados. Graças à biomonitorização, os investigadores demonstraram que mais de 80% da população tinha concentrações de BPA na sua urina acima do LOD. Embora a EFSA tenha proposto uma TDI em 2015, são cada vez mais os estudos que salientam a violação pelo BPA do princípio de Paracelsus. Por esta razão, recolhemos dados dada nos diferentes artigos selecionados para esta revisão sistemática sobre as diferentes doses de ingestão diária média de BPA em doentes odontopediátricos.

Uma vez que a contaminação industrial desempenha um papel importante, foi mencionado que o estilo de vida e o consumo podem reduzir a contaminação por BPA.

5.B- BPA como um fator na etiologia da MIH e possível mecanismo de ação

Os potenciais efeitos adversos da exposição aos EDCs são motivo de crescente preocupação, com uma base científica, e são objeto de crescente debate público. Os EDCs afetam adversamente diferentes células, tecidos e órgãos, e os seus mecanismos de ação começaram a ser elucidados com a caracterização dos seus potenciais receptores. ⁽⁴³⁾

5.B.1- Associação do MIH com fatores pré-natais, natais e pós-natais

Num estudo caso-controlo publicado em Setembro de 2020, pesquisadores investigam a associação do MIH com fatores pré-natais, natais e pós-natais entre crianças libanesas de 7-9 anos, para acabar com recomendações para ultrapassar a sua ocorrência. Neste estudo, Elzein (2020)⁽⁵³⁾ salientam que o consumo materno de alimentos e bebidas enlatadas durante a gravidez é um fator de risco para a MIH. De facto, a análise univariada mostrou uma associação significativa positiva entre a MIH e as crianças cujas mães tinham consumido alimentos e bebidas enlatadas durante a gravidez no período pré-natal e no período pós-natal durante a alimentação, respectivamente: $p = 0,0094$ e $p = 0,0184$.

Como acima referido, o BPA e os seus substitutos podem atravessar a barreira placentária, e está presente no leite humano. Deve-se também notar que o leite humano é a principal ou exclusiva fonte de nutrição para os bebés. Se as mães forem expostas a poluentes ambientais, estes podem contaminar o leite humano, portanto, os bebés amamentados serão expostos ao BPA durante o período crítico da mineralização dos primeiros molares e incisivos permanentes.

5.B.2- Breve resumo da fisiologia da amelogénese

Desde a sua primeira erupção na cavidade oral, os dentes desempenham um papel crucial na estética, oclusão, mastigação, fonética, expressão de sentimentos e desenvolvimento da mandíbula. Embora sejam utilizados para falar, comer e sorrir, são fundamentais para o bem-estar funcional-psico-emocional da criança e devem ser mantidos saudáveis.⁽¹⁷⁾

A amelogénese segue uma sequência que envolve a diferenciação dos ameloblastos e a morte associada a um padrão específico de expressão genética. Começa com uma fase secretória durante a qual se forma uma matriz parcialmente mineralizada de esmalte.

A matriz de esmalte é composta por EMPs: amelotina, amelogenina, enamulina, ameloblastina, que são submetidas a um processamento extracelular por matriz metaloproteinase 20 (MMP-20).

Matrix metaloproteinase-20, também chamada enamel metaloproteinase ou esamelysina, é uma enzima que é codificada pelo gene MMP20.

Após o depósito da espessura total do esmalte, inicia-se a fase de maturação da amelogénese, durante a qual a protease serina kallikrein 4 (KLK4) degrada as proteínas da matriz do esmalte. No caso fisiológico normal, a fase de maturação dos ameloblastos é a fase mais longa da amelogénese.

As proteínas matrizes são essenciais para a formação correta do esmalte, mas a alteração da atividade e/ou a perturbação da proliferação, diferenciação, e processos de maturação dos ameloblastos, conduzem a defeitos irreversíveis do esmalte; e a retenção anormal de proteínas, ou mesmo qualquer proteína estranha, como a albumina sérica, leva à erupção de esmalte hipomineralizado.⁽⁴⁰⁾⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁵⁾

5.B.3- Hipomineralização molar-incisivo: MIH

Os tóxicos ambientais podem afetar a síntese do esmalte e os defeitos biológicos e estruturais resultantes precisam de ser estudados para caracterizar os defeitos do esmalte e compreender a sua elevada prevalência. As formas mais frequentes de hipomineralização do esmalte são a MIH e a fluorose dentária.⁽⁸⁾⁽²¹⁾⁽⁴²⁾

5.B.3.a- Definição

O esmalte é o tecido mineralizado mais duro do corpo humano, serve como uma barreira protetora resistente ao desgaste para a parte interna do dente. Contudo, no caso da MIH, esta barreira torna-se porosa e resulta em muitas complicações e desafios. MIH que é simultaneamente uma patologia hipomineralizante e hipoplásica do esmalte ⁽³⁸⁾, é caracterizada por manchas/opacidades brancas opacas irreversíveis e aleatórias no esmalte dos dentes afetados. ⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾⁽⁴¹⁾

Mesmo se a MIH é uma patologia recentemente descrita, uma característica chave é que afeta preferencialmente os incisivos permanentes e os primeiros molares cuja processo de mineralização intervém do período fetal até aos primeiros 3 anos de vida. Isto implicaria que os agentes responsáveis pela MIH humana só poderiam exercer os seus efeitos durante um período específico de desenvolvimento. Desta forma, os dentes que se desenvolvem fora desta janela crítica não seriam afetados. ⁽³⁸⁾

A MIH é frequentemente diagnosticada em muitas populações em todo o mundo, ⁽³⁸⁾ em crianças com aproximadamente 6 a 8 anos de idade. A prevalência de MIH é altamente variável, com 2,4% a 40,2% (média de aproximadamente 18%) de crianças afectadas. ⁽²¹⁾⁽³⁹⁾⁽⁴¹⁾

5.B.3.b- Etiologia

Apesar de ainda não se ter chegado a um consenso claro sobre a sua etiologia relativamente aos fatores causais e de risco, ⁽⁸⁾⁽¹⁸⁾⁽³⁸⁾⁽⁴⁰⁾ alguns estudos sugerem fatores prováveis associadas à MIH incluindo diversas condições ambientais, tais como hipoxia, hipocalcemia, dioxinas, bifenilos policlorados, e amamentação prolongada. ⁽²²⁾

Podemos também notar que o estudo retrospectivo de Elzein (2020) ⁽⁵³⁾ sobre a associação da MIH com fatores pré-natais, natais e pós-natais revelou que a febre alta é um fator de risco associado à MIH. Estes dados são consistentes com a literatura que relatou uma correlação significativa entre a incidência de febre alta recorrente e a ocorrência de MIH, potencialmente devido à expressão alterada dos genes envolvidos na amelogénese.

⁽⁴⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹²⁾

O uso de antibióticos tem sido por vezes mencionado, tanto na literatura como no estudo de Elzein (2020).⁽⁸⁾⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾ Mas como na maioria dos casos os antibióticos estão ligados ao aparecimento duma doença, é difícil distinguir se a associação com MIH foi causada pelo uso de antibióticos ou pela própria doença.

5.B.4- Conhecimento dos mecanismos de ação do BPA a partir do estudo do rato

5.B.4.a- Os ratos são um bom modelo para estudar a amelogénese

Para estudar a relação entre a MIH e a exposição ao BPA a baixa dose, os estudos sobre órgãos isolados do esmalte são determinantes para elucidar os eventos patológicos que levam a defeitos do esmalte, qualquer que seja a sua origem, ambiental ou genética.⁽⁴⁵⁾

De facto, os incisivos dos ratos são particularmente interessantes. Por um lado, fornecem um registo contínuo de como uma perturbação da amelogénese afeta o desenvolvimento futuro. Por outro lado, é mais fácil criar um grupo de controlo (não exposto ao BPA) para um estudo comparativo, uma vez que o BPA é omnipresente na vida humana.⁽⁷⁰⁾ Os roedores expostos a tóxicos ambientais capazes de perturbar a amelogénese e alterar a qualidade do esmalte podem constituir um bom modelo para estudos sobre os fatores ambientais.⁽⁴⁵⁾

No entanto, nesta revisão sistemática, apenas foram selecionados estudos sobre ratos Wistar Han. Pois tem sido salientado que muitos dos estudos que não conseguiram detectar os efeitos das baixas doses utilizaram o rato do "Charles River Sprague-Dawley". Esta estirpe foi especificamente criada para ter grandes ninhadas, e muitas eras de consanguinidade tornaram o animal relativamente insensível aos estrogénios.

É importante notar que isto pode não ser verdade para os ratos Sprague-Dawley originários de outros fornecedores. Contudo, no caso em que o artigo estudado não especificava, optámos, como princípio de precaução, por excluí-los.⁽⁶⁶⁾

5.B.4.b- Exame clínico do esmalte de rato e janela de tempo de desenvolvimento específico

Em primeiro lugar, vejamos as observações visuais dos investigadores. Jedeon (2013) mostram que após a administração de BPA, o esmalte dos incisivos inferiores de 12 dos 16 ratos (75%) foi afetado por manchas brancas simétricas ou assimétricas, afetando os incisivos em graus variáveis, desde um terço ou menos da superfície do dente afetado até à quebra do esmalte. Em contraste, o esmalte dos incisivos mandibulares de 100% dos ratos de controlo era uniformemente amarelo a laranja.

Estes resultados estão em total sintonia com os de Jedeon (2014a), Jedeon (2014b) bem como Jedeon (2016b) e Houari (2018).

Jedeon (2016a), constatou que só 31% das ratas expostas ao BPA tinham defeitos na estrutura dos seus dentes.

Após análise dos dentes afetados, os investigadores traçaram um paralelo com os dentes humanos MIH. Notamos que vários estudos selecionados nesta revisão sistemática comparam as características do MIH humano (manchas brancas simétricas ou assimétricas que afetavam os incisivos em graus variáveis), com às características do esmalte de rato afetado por BPA. Ambos parecem estar hipomineralizados.

Jedeon (2014a), Jedeon (2014b) e Jedeon (2016b) descrevem a existência de aparentes semelhanças entre os defeitos de esmalte induzidos por BPA no modelo de rato e as lesões MIH humanas.

Além disso, segundo Jedeon (2013), existe um claro paralelo entre a causa associada ao efeito do BPA na amelogenese em ratos e a causa associada à MIH humana, uma vez que os incisivos dos ratos tratados com BPA no dia 100 já não eram afetados e não diferiam dos controlos. Como o esmalte de incisivos de rato está continuamente a crescer, podemos inferir que o esmalte só é sensível ao BPA durante uma janela de tempo de desenvolvimento específico. Estes dados são consistentes com a MIH humana, onde apenas os incisivos e primeiros molares são afetados. ⁽³⁸⁾

Os dentes mais afetados pela MIH humana começam a mineralizar entre o nascimento e os 5 meses de idade. Por certo, este período pode representar a janela de susceptibilidade para a MIH humana. ⁽³⁸⁾⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾

Além disso, a afeição seletiva da MIH sugere uma perturbação durante uma estreita janela de tempo compatível com o padrão de secreção da hormona esteróide durante a mineralização do esmalte. ⁽⁴⁴⁾

A janela de susceptibilidade ao BPA cobre o período perinatal, reforçando as dúvidas de que o BPA tenha as características de um fator hipomineralizante do esmalte e possa, portanto, ser considerada um agente causal da MIH. ⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾

Esta suposição é reforçada por o efeitos estrogénicos dose-dependentes do BPA e o facto que os EDCs podem interferir com a composição e secreção das hormonas sexuais. ⁽⁴⁶⁾

5.B.4.c- BPA induz a proliferação de ameloblastos por ER α

Jedeon (2014b) descobriram que em ratos machos tratados com BPA, há um aumento significativo do comprimento do laço cervical (nicho de células progenitoras proliferativas), e um aumento da atividade mitogénica em pré-ameloblastos, do que em ratos de controlo.

A presença de BPA aumenta a duração da fase de secreção dos ameloblastos, enquanto fisiologicamente a fase de maturação está mais longa. Portanto, poderia haver uma aceleração do processo de diferenciação e uma diminuição no tempo da fase de maturação, essencial para a mineralização da matriz do esmalte. ⁽⁴⁰⁾

Muitos receptores de esteróides são expressos por ameloblastos com um padrão específico, dependendo da proliferação e diferenciação celular, fazendo que os ameloblastos respondam às hormonas esteróides. ⁽⁴⁴⁾

Para ir mais adiante, vamos analisar especificamente cada padrões de expressão de receptores putativo do BPA durante a amelogénese.

Houari (2016), referem que ERR γ , ER α , e GPR30 são expressos principalmente em ameloblastos de fase inicial (secretórios e pré-ameloblastos) no laço cervical. Song et al. (2015) acrescentam que o BPA aumenta os níveis de proteínas de ERR γ . ⁽⁷⁴⁾

Segundo Jideon (2014b), Jideon (2016c) e Houari (2016), os epitélios dentários de ratos não expressam ER β .

Os ERs, e mais especificamente a sinalização das ER α , estão apenas parcialmente envolvidas nos efeitos do BPA no esmalte e são afetados exclusivamente durante a fase de proliferação. ⁽⁴⁰⁾⁽⁴⁴⁾ Para ER α , Jideon (2016c), Houari (2016) e Jideon (2014b) concordam que a expressão é especialmente no laço cervical em células pré-ameloblastos proliferativos. Jideon (2014b) adicionam que os níveis são semelhantes em machos e em fêmeas, e que ER α media, pelo menos em parte, os efeitos mitogénicos a curto prazo do BPA em células pré-ameloblásticas. ⁽⁴⁴⁾

Por último, Houari (2016) mostram que ERR α e ERR β são expressos em ameloblastos em fase de maturação, mas até à data, o papel do ERR α , e mais geralmente das ERRs, na amelogénese é desconhecido. ⁽⁴⁴⁾

BPA é capaz de modular diretamente ou indiretamente através de vários receptores expressado por os ameloblastos, incluindo as ERs, ERR γ , GPR30, PGR e AR ; não só em ameloblastos em fase de maturação, mas também em células pré-secretárias e proliferantes do laço cervical. Contudo, a estimulação da proliferação ameloblástica pelo BPA é susceptível de alterar o seu programa de diferenciação durante a amelogénese.

⁽⁴⁰⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾

Além disso, os níveis relativos de expressão dos receptores de esteróides sexuais em ameloblastos de ratos são para AR muito mais elevados durante toda a sequência de amelogénese do que os níveis de ER α e PGR, e mais elevados na fase de maturação dos ameloblastos (envolvidos na mineralização terminal do esmalte) o que contraste com ER α . ⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾ Dado que AR é mais fortemente expressa no epitélio do que no mesênquima, e que os ameloblastos eram altamente sensíveis aos andrógenos (nomeadamente AR, que foi aumentada pela Testosterona), o principal efeito da testosterona nos dentes deveria ser a regulação da mineralização do esmalte. ⁽⁴³⁾

As ações do BPA podem envolver muitos sistemas de sinalização, conseqüentemente, qualquer interpretação dos efeitos do BPA sobre os ameloblastos baseada apenas em ações de simulação de estrogénio seria sem dúvida demasiado redutora.

5.B.4.d- BPA induz o aumento do conteúdo orgânico, uma perturbação da hemóstase iónica e do pH

Em relação ao grupo de genes envolvidos na homeostase iónica (SLCs, CAs e calbindin-1), notar que são cruciais para o fornecimento de cálcio e fosfato ao compartimento apical dos ameloblastos, e assegurar a montagem destes minerais em cristais de esmalte, mantendo um pH adequado e limitando a morte celular.⁽⁴²⁾

O BPA aumenta o conteúdo orgânico do esmalte, como indicado pelos estudos de Jideon (2013). De facto, se os rácios Ca/C e Ca/P são mais baixos nos ratos tratados com BPA do que nos controlos, é porque há um aumento significativo na concentração de matéria orgânica relativo à fase mineral e uma deficiência em cálcio.⁽³⁸⁾

Estes resultados relativos a perturbação da hemóstase iónica e do pH, são consistentes com os de Jideon (2016b). Para ser conciso, Jideon (2016b) descobriu que o BPA influenciou certos genes, incluindo os envolvidos na regulação do pH do esmalte, na estimulação do apoptose, na troca $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$.

Efetivamente, Slc26a4 e Slc5a8 que são expressados principalmente em ameloblastos em fase de maturação⁽⁴³⁾, parece ser up-regulado pelo BPA.⁽⁴²⁾ Slc26a4 é um permutador de aniões para cloreto, bicarbonato, iodo e que neutraliza a acidificação do líquido do esmalte na formação do esmalte, enquanto Slc5a8 codifica um transportador acoplado a sódio para monocarboxilatos.⁽⁴³⁾

Por fim, relativamente ao teor de proteínas séricas, Jideon (2013) revelaram que os ratos tratados com BPA continham níveis significativamente mais elevados de albumina sérica no esmalte da fase inicial de maturação. Apesar de a presença de albumina ligada a minerais e proteínas de matriz de esmalte na fase inicial de maturação poderia inibir o crescimento do cristal de esmalte, resultando na hipomineralização.⁽⁸⁵⁾⁽⁸⁶⁾

Uma vez que a arquitetura prismática real do esmalte é estabelecida durante a fase de secreção, então a inibição do crescimento do cristal por matéria orgânica durante a fase de maturação não deve afetar a estrutura prismática subjacente. A inibição do

crescimento de cristais já dispostos no padrão clássico seria devida à retenção de proteínas na fase de maturação posterior, mas a arquitetura prismática continuaria a estar presente de forma hipomineralizada.⁽³⁸⁾

5.B.4.e- Caracterização dos eventos moleculares subjacentes aos defeitos do esmalte

Vamos ver agora os possíveis mecanismos moleculares pelos quais o BPA afetaria a formação do esmalte no modelo de rato. Para o fazer, compreender como o BPA modula genes-chave do esmalte envolvidos na amelogenese, chamado “hypomineralization enamelome” que compreende : *Amelx*, *Enam*, *Klk4*, *Mmp12*, *Slc26a4* e *Slc5a8*.⁽⁴²⁾

O *Enam* desempenha um papel central uma vez que tem sido associado a vários defeitos de esmalte e pensa-se que as mutações neste gene conduzem a amelogenese imperfeita associada ao MIH.⁽⁸⁷⁾⁽⁸⁸⁾⁽⁸⁹⁾ O nível de expressão do *Enam* parece ser um determinante da estrutura e qualidade do esmalte.⁽³⁸⁾⁽⁴²⁾

No entanto, vários estudos selecionados nesta revisão sistemática indicam que o BPA influencia este gene. De facto, como relatado em : Jedeon (2013)⁽³⁸⁾, Jedeon (2014a)⁽³⁹⁾ e Jedeon (2016b)⁽⁴²⁾.

O *Amelx*, que codifica o EMP mais abundante, é também importante para a amelogenese e mutações deste gene causador da amelogenese imperfeita.

A severidade e heterogeneidade do defeito do esmalte pode assim depender de o esmalte ser perturbado sozinho ou em associação com o *Amelx*.⁽⁴²⁾

O BPA influenciará a expressão do enamulina e *Klk4* através da regulação transcripcional. Cada uma destas perturbações de expressão genética pode contribuir para defeitos no esmalte.⁽⁴²⁾

Os dados de expressão genética de enamulina obtidos por Jedeon (2013), Jedeon (2014a) e Houari (2018), indicam que em ratos tratados com BPA a expressão do enamulina foi significativamente aumentada em comparação com os ratos de controlo.

Em contraste, a expressão do gene *Klk4* foi significativamente reduzida em ratos tratados com BPA em comparação com ratos de controlo segundo Jedeon (2013), Jedeon (2014a), Jedeon (2016b), Jedeon (2016c) e Houari (2018).

Uma diminuição do sinal de KLK4, expressados principalmente em ameloblastos em fase de maturação⁽⁴³⁾, sugere regulamentações pós-transcritas adicionais que conduzem a uma menor quantidade de proteínas totais. A redução resultante da atividade das proteases promove um acumulação de EMPs, impedindo assim a mineralização completa do esmalte.⁽⁴²⁾

5.B.4.f- Impacto preferencial do BPA nos machos

Jedeon (2016a) que trabalharam apenas em ratos fêmeas encontraram uma diferença que permite-nos sugerir que os machos são mais susceptíveis do que as fêmeas à perturbação endócrina durante a vida fetal e nas primeiras semanas pós-natais. ⁽⁴⁴⁾

De forma mais abrangente, os níveis de mRNAs que codificam as principais EMPs (amelogenina, ameloblastina, amelotina, enamelina), e proteases (Mmp20 e Klk4) não variaram entre os diferentes grupos de ratos fêmeas. Isto deve-se provavelmente ao facto de os níveis de mRNA apresentarem grandes variações dentro do mesmo grupo, fazendo com que a diferença com o grupo de controlo seja insignificante.⁽⁴¹⁾

O impacto preferencial do BPA no esmalte masculino ⁽³⁸⁾⁽⁴⁰⁾, também pode ser devido aos ciclos estrogênicos e as conseqüentes alterações hormonais nas fêmeas que poderiam interpretar estas observações.

Por outro lado, uma vez que os ARs sejam expressos de forma semelhante nos epitélios dentários masculino e feminino, a diferença sexual da amelogénese pode resultar do nível de testosterona. Como o BPA exerce os seus efeitos anti-androgénicos ao prevenir a ativação da AR e ao baixar os níveis de testosterona endógena, o BPA pode exercer os seus efeitos anti-androgénicos na mineralização final do esmalte através dos ARs expressado em ameloblastos em fase de maturação. Assim, os altos níveis de testosterona nos homens após o nascimento, concomitantemente com a amelogénese, podem causar um dimorfismo sexual na qualidade do esmalte.⁽⁴⁰⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾

Contudo, a tendência geral de resposta nas fêmeas é para a diminuição das EMPs e proteases.⁽⁴¹⁾

5.B.4.g- Efeitos da combinação de BPA e outros EDCs

As populações humanas são expostas simultaneamente, mesmo em doses baixas, a muitos EDCs com atividades diferentes. Isto levanta a questão dos efeitos das combinações de EDCs em doses baixas.

O estudo da combinação de genisteína, vinclozolina e BPA é de particular interesse devido à sua utilização generalizada e às suas atividades relativamente semelhantes ou complementares que conduzem a efeitos pró e anti-androgénicos.

Os estudos de Jedeon (2014a) como Jedeon (2016a), salientam que as diferentes combinações testadas tiveram menos impacto no esmalte de incisivos de rato in vivo do que apenas o BPA.

Especificamente, segundo Jedeon (2014a) os níveis de mRNAs que codificam EMPs e proteases não foram significativamente afetados pelos tratamentos combinados em comparação com os controlos. A vinclozolina não modulou a expressão do gene *klk4*, mas diminuiu significativamente a expressão da *enamelina*.

Tipicamente, os dados publicados indicam que a combinação de certos EDCs potencia os efeitos de outros EDCs. No entanto, a combinação de genisteína e/ou de vinclozolina com BPA reduziu os efeitos de BPA na mineralização do esmalte.

Isto pode ser explicado pelo facto de os três EDCs se ligarem a diferentes receptores específicos e utilizarem diferentes vias de sinalização em ameloblastos. Assim, se poucos ratos tratados com as combinações EDCs mostraram hipomineralização do esmalte, isto pode ser devido à repressão da expressão da *enamelina* por vinclozolina ou devido a efeitos sobre a expressão de outros genes.

Pelo contrário, Jedeon (2016b) mostram a potenciação do BPA por fluoreto de sódio (NaF). O BPA aumenta a sensibilidade dos ameloblastos e do esmalte ao flúor. A combinação destes dois agentes generalizados exacerba a hipomineralização do esmalte resultantes em um fenótipo mais severo do que os ratos expostos apenas a NaF; ou seja, descoloração mais pronunciada dos incisivos, e significativamente menos densidade e volume de esmalte do que o observado nos ratos de controlo. Além disso, a combinação afetou a expressão de genes ameloblásticos em maior medida.⁽⁴²⁾

5.B.5- BPA é um fator na etiologia da MIH

Estudos in vitro com ratos mostraram que a exposição pré-natal a substâncias químicas desreguladoras do sistema endócrino (EDCs) como o bisfenol A (BPA) pode resultar em lesões do tipo MIH através de um aumento da expressão das EMPs, amelotina, amelogenina, enamelina e ameloblastina, enquanto, ao mesmo tempo ocorre uma diminuição das proteases KLK4 e MMP-20 que supostamente devem remover as EMPs restantes. Para além disso, há uma acumulação de albumina, e perturbação da homeostase iónica e do pH que reprime o crescimento dos cristais. ^{(38)(39)(40,42)(43)(44)}

A partir dos resultados apresentados somos capazes de reportar que:

- Os ameloblastos de secreção que expressam ER α e PGR estão envolvidos no volume e espessura do esmalte (quantidade de esmalte) por enamelina, ameloblastina, e amelogenina que contribuem para a deposição da matriz de esmalte.
- Os ameloblastos de maturação que expressam AR estão envolvidos na mineralização e dureza do esmalte (qualidade do esmalte) pelos genes de esmalte regulados por androgénio KLK4 e amelotina, e na homeostase iónica e de pH por SLCs. Estes genes do esmalte regulados por androgénio são alvo de BPA que inibiu a translocação nuclear induzida por T induzindo efeitos perturbadores do esmalte mediados através AR.
- Além disso, a presença de estrogénios-alfa, vitamina D e receptores da tiroide em ameloblastos nas fases de desenvolvimento, quando a expressão do esmalte e Klk4 é máxima, sugere que o BPA afeta a expressão destes genes através da via da hormona nuclear. ⁽³⁸⁾⁽⁴³⁾
- A expressão geralmente mais elevada dos receptores hormonais esteroides na fase de maturação-ameloblastos sugere um controlo hormonal da mineralização final do esmalte, e portanto da qualidade do esmalte em vez da quantidade de esmalte. ⁽⁴⁴⁾

Enquanto ao impacto preferencial do BPA nos machos, as células epiteliais dentárias são sensíveis aos andrógenos e que a expressão do gene chave do esmalte pode ser modulada

pela testosterona, pode dar uma explicação do dimorfismo sexual da qualidade do esmalte e do impacto preferencial dos EDCs no esmalte dos homens.⁽⁴³⁾

Para ir mais além, note-se que o esmalte é um biomarcador da exposição EDCs.

O incisivo roedor mostra como um efeito na amelogénese afeta o desenvolvimento futuro do incisivo que continua a entrar em erupção. Cada EDCs pode afetar específica e irreversivelmente o esmalte, dependendo do seu receptor putativo de ativação, gerando vários defeitos. De facto, o fenótipo clínico da MIH é variável entre indivíduos.

Portanto, os defeitos do esmalte são irreversíveis e proporcionam um registo permanente de qualquer perturbação durante o desenvolvimento do esmalte. A análise cuidadosa do esmalte pode ser informativa sobre os EDCs causadores, e os defeitos de esmalte resultantes podem ser utilizados como um biomarcador fácil da exposição a poluentes ambientais por fornecer um meio de fixar um acontecimento patológico num determinado momento do desenvolvimento. ⁽³⁸⁾⁽⁴⁰⁾⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁵⁾⁽⁵⁰⁾⁽⁵⁴⁾⁽⁷⁶⁾⁽⁷³⁾

6. Limitações

Esta revisão sistemática apresenta algumas limitações. A primeira deve-se ao facto do número de artigos seleccionados ser reduzido. De facto, o processo de seleção dos artigos concentrou-se no intervalo de tempo 2010 a 2021. Um período de referência maior incluiria mais estudos, mas o nosso objetivo centrou-se em identificar evidências mais recentes sobre os efeitos do BPA na etiologia do MIH, o que ao incluir artigos anteriores ao ano de 2010 não refletiria o conhecimento mais recente do tema em questão. Além disso, é de notar que embora a investigação sobre os efeitos do BPA na saúde geral tenha começado antes de 2010, a investigação sobre a sua influência na cavidade oral é muito recente. Assim, concluímos que o intervalo de tempo, embora restritivo, não constitui por si um problema na relevância desta revisão.

A limitação ao idioma inglês, pode ter contribuído para a perda de alguns artigos potencialmente relevantes. Contudo a língua inglesa é irrefutavelmente a língua universal. Assim, consideramos este parâmetro o menos problemático e condicionante. A própria metodologia e estratégia de busca utilizada, apesar de abrangente, pode ter excluído artigos relevantes, embora tenhamos recorrido a bases de dados diferentes como PubMed, Cochrane Library e ScienceDirect. Embora tenha sido levado com um método rigoroso, é possível que alguns artigos relevantes tenham falhado.

Por outra parte, também encontramos algumas limitações relativamente aos estudos incluídos. Alguns estudos têm sido realizados em pequenas amostras de populações humanas. Contudo, é de notar que a investigação é dispendiosa, e o financiamento e subsídios podem não ser suficientes para realizar estudos como o que se refere às influências do BPA. Isto acontece porque os investidores não podem esperar um retorno rápido e rentável do seu investimento. Não esqueçamos aqui que o custo médio de saúde e económico que pode razoavelmente ser atribuído à exposição da EDCs na União Europeia é de 157 mil milhões de euros por ano.⁽⁹⁰⁾

Além disso, metade dos estudos seleccionados nesta revisão sistemática foram realizados em ratos representando uma limitação significativa. É evidente que, uma análise de

estudos realizados em animais tem de considerar as diferenças fisiológicas e que não é apropriado transpor diretamente os resultados. No entanto, estudos rigorosos sobre a população humana, tais como estudos de caso-controlo, não são realizáveis para estudo sobre o BPA. De facto, toda a população está impregnada em doses baixas, tornando impossível desenvolver provas científicas rigorosamente estabelecidas dos efeitos deste produto na saúde. Se toda a população humana mundial estiver exposta a este composto, é quimérico realizar um estudo comparativo de caso-controlo.

7- Conclusão

Esta revisão sistemática, possibilitou sintetizar e analisar a literatura sobre o BPA na etiologia da MIH. Compreender os efeitos reais do BPA na saúde humana é uma tarefa de investigação exigente, mas necessária. Os efeitos nocivos do BPA foram confirmados por 93% dos estudos públicos, contudo, o BPA continua a ser um dos produtos químicos de maior volume produzidos no mundo. Os estudos relatados nesta revisão salientam que no mínimo, 83% da população tem concentrações de BPA na sua urina acima do limite de detecção (LOD). Isto é consistente com outros estudos, destacando a contaminação da maioria das pessoas nos países industrializados devido a uma exposição omnipresente e ubíqua. A atual TDI deste desregulador endócrino foi estabelecida em 2015 pela EFSA a 4 microgramas por quilograma de peso corporal por dia. Efetivamente, a análise dos resultados indica uma mediana das concentrações de BPA observadas nas urinas variante entre 1,37 e 2,41 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Contudo, a relação dose-resposta não-monotónica do BPA torna difícil prever os efeitos na saúde em doses baixas.⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾⁽⁴⁰⁾⁽⁵⁴⁾⁽⁶²⁾⁽⁶⁶⁾⁽⁶⁸⁾⁽⁶⁹⁾

Um dos EDCs mais ativos e amplamente utilizado na indústria do plástico, poderia ser reconhecido como um agente causal da MIH. O BPA afeta as funções dos ameloblastos, por aumentar a expressão dos genes que codificam as EMPs e ao diminuir a das proteases. Além disso, a perturbação da homeostase iónica e do pH, bem como a retenção de proteínas estranhas (albumina sérica), conduzem a inibição do crescimento dos cristais.⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁵⁾⁽⁵³⁾⁽⁸⁵⁾⁽⁸⁶⁾

A atividade estrogênica do BPA permite se ligar a múltiplos receptores, incluindo ERs, cujo vários estudos de desenvolvimento e experimentais têm demonstrado a expressão em odontoblastos e tecido de polpa dentária. ER α estando envolvida em eventos iniciais e proliferação celular, a sua perturbação pode levar a defeitos morfogenéticos. Enquanto o AR estando envolvido em eventos tardios através da modulação da expressão dos genes da mineralização terminal do esmalte.⁽²⁴⁾⁽⁴⁰⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾⁽³⁸⁾⁽²⁶⁾⁽⁵⁴⁾⁽²⁴⁾⁽⁹⁰⁾⁽²⁷⁾

Várias hipóteses convergem para indicar que o BPA perturba a amelogénese e é responsável pela inibição da mineralização. Por conseguinte, o bisfenol A poderia ser considerado como um fator etiológico envolvido na Hipomineralização Incisivo-Molar.

O conhecimento científico está a avançar, e permitirá aos legisladores desenvolver novas leis para proteger a saúde pública.

8- Referências Bibliográficas

1. Fincham AG, Moradian-Oldak J, Simmer JP. The structural biology of the developing dental enamel matrix. *J Struct Biol* [Internet]. 1999 Jun 30 [cited 2021 Aug 18];126(3):270–99. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10441532/>
2. Paine ML, Zhu DH, Luo W, Bringas P, Goldberg M, White SN, et al. Enamel biomineralization defects result from alterations to amelogenin self-assembly. *J Struct Biol* [Internet]. 2000 [cited 2021 Aug 20];132(3):191–200. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11243888/>
3. Simmer JP, Hu JCC. Expression, structure, and function of enamel proteinases. *Connect Tissue Res* [Internet]. 2002 [cited 2021 Aug 20];43(2–3):441–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12489196/>
4. Simmer JP, Hu JC-C. Dental Enamel Formation and Its Impact on Clinical Dentistry. *J Dent Educ* [Internet]. 2001 Sep [cited 2021 Aug 20];65(9):896–905. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11569606/>
5. Shimizu T, Ho B, Deeley K, Briseño-Ruiz J, Faraco IM, Schupack BI, et al. Enamel Formation Genes Influence Enamel Microhardness Before and After Cariogenic Challenge. *PLoS One* [Internet]. 2012 Sep 24 [cited 2021 Aug 20];7(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23028741/>
6. Suckling GW. Developmental defects of enamel--historical and present-day perspectives of their pathogenesis. [Internet]. Vol. 3, *Advances in dental research*. *Adv Dent Res*; 1989 [cited 2021 Aug 20]. p. 87–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2701161/>
7. Seow WK. Clinical diagnosis of enamel defects: Pitfalls and practical guidelines. *Int Dent J* [Internet]. 1997 [cited 2021 Aug 20];47(3):173–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9448804/>
8. Jälevik B, Norén J G. Enamel hypomineralization of permanent first molars: a morphological study and survey of possible aetiological factors. *Int J Paediatr Dent* [Internet]. 2000 [cited 2021 Aug 21];10(4):278–89. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11310241/>
9. Weerheijm KL, Jälevik B AS. Molar-incisor hypomineralisation. *Caries Res* [Internet]. 2001 Sep [cited 2021 Aug 21];35(5):390–1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11641576/>
10. Weerheijm KL. Molar Incisor Hypomineralisation (MIH). *Eur J Paediatr Dent* [Internet]. 2003 [cited 2021 Aug 21];4(3):115–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14529330/>
11. Weerheijm KL, Duggal M, Mejàre I, Papagiannoulis L, Koch G, Martens LC, et al. Judgement criteria for Molar Incisor Hypomineralisation (MIH) in epidemiologic studies: A summary of the European meeting on MIH held in Athens, 2003. *Eur J Paediatr Dent* [Internet]. 2003 [cited 2021 Aug 20];4(3):110–3. Available from:

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14529329/>
12. Jeremias F, Souza JF De, Costa Silva CM Da, Cordeiro RDCL, Zuanon ÂCC, Santos-Pinto L. Dental caries experience and Molar-Incisor Hypomineralization. *Acta Odontol Scand* [Internet]. 2013 May [cited 2021 Aug 21];71(3–4):870–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23351220/>
 13. Rodd HD, Boissonade FM, Day PF. Pulpal status of hypomineralized permanent molars. *Pediatr Dent* [Internet]. 2007 [cited 2021 Aug 21];29(6):514–20. Available from: https://www.researchgate.net/publication/5598662_Pulpal_status_of_hypomineralized_permanent_molars
 14. Weerheijm KL. Molar incisor hypomineralization (MIH): clinical presentation, aetiology and management. *Dent Update* [Internet]. 2004 [cited 2021 Aug 21];31(1):9–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15000003/>
 15. Fayle SA. Molar Incisor Hypomineralisation: Restorative management. *Eur J Paediatr Dent*. 2003;4(3):121–6.
 16. Portella PD, Menoncin BLV, de Souza JF, de Menezes JVNB, Fraiz FC, Assunção LR da S. Impact of molar incisor hypomineralization on quality of life in children with early mixed dentition: A hierarchical approach. *Int J Paediatr Dent* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2021 Aug 21];29(4):496–506. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30758096/>
 17. Leal SC, Oliveira TRM, Ribeiro APD. Do parents and children perceive molar–incisor hypomineralization as an oral health problem? *Int J Paediatr Dent* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2021 Aug 21];27(5):372–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27748991/>
 18. Schwendicke F, Elhennawy K, Reda S, Bekes K, Manton DJ, Krois J. Global burden of molar incisor hypomineralization [Internet]. Vol. 68, *Journal of Dentistry*. *J Dent*; 2018 [cited 2021 Aug 21]. p. 10–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29221956/>
 19. Jälevik B, Klingberg GA. Dental treatment, dental fear and behaviour management problems in children with severe enamel hypomineralization of their permanent first molars. *Int J Paediatr Dent* [Internet]. 2002 Jan 1 [cited 2021 Aug 21];12(1):24–32. Available from: <https://europepmc.org/article/med/11853245>
 20. Lygidakis NA. Treatment modalities in children with teeth affected by molar-incisor enamel hypomineralisation (MIH): A systematic review. [Internet]. Vol. 11, *European archives of paediatric dentistry : official journal of the European Academy of Paediatric Dentistry*. *Eur Arch Paediatr Dent*; 2010 [cited 2021 Aug 21]. p. 65–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20403300/>
 21. Jälevik B. Prevalence and Diagnosis of Molar-Incisor- Hypomineralisation (MIH): A systematic review. [Internet]. Vol. 11, *European archives of paediatric dentistry : official journal of the European Academy of Paediatric Dentistry*. *Eur Arch Paediatr Dent*; 2010 [cited 2021 Aug 20]. p. 59–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20403299/>
 22. Alaluusua S. Aetiology of Molar-Incisor Hypomineralisation: A systematic review. Vol. 11, *European archives of paediatric dentistry : official journal of the European Academy of Paediatric Dentistry*. 2010. p. 53–8.

23. Suga S. Enamel hypomineralization viewed from the pattern of progressive mineralization of human and monkey developing enamel. *Adv Dent Res* [Internet]. 1989 [cited 2021 Aug 22];3(2):188–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2640430/>
24. Liu Y, Qu K, Hai Y, Zhao C. Bisphenol A (BPA) binding on full-length architectures of estrogen receptor. *J Cell Biochem* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2021 Aug 26];119(8):6784–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29737547/>
25. Li Y, Perera L, Coons LA, Burns KA, Tyler Ramsey J, Pelch KE, et al. Differential in vitro biological action, coregulator interactions, and molecular dynamic analysis of bisphenol A (BPA), BPAF, and BPS ligand–ER α complexes. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2021 Aug 26];126(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29389661/>
26. Shafei A, Matbouly M, Mostafa E, Al Sannat S, Abdelrahman M, Lewis B, et al. Stop eating plastic, molecular signaling of bisphenol A in breast cancer [Internet]. Vol. 25, *Environmental Science and Pollution Research*. *Environ Sci Pollut Res Int*; 2018 [cited 2021 Aug 26]. p. 23624–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29959737/>
27. Vandenberg LN, Maffini M V., Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM. Bisphenol-a and the great divide: A review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocr Rev* [Internet]. 2009 Feb [cited 2021 Aug 29];30(1):75–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19074586/>
28. JRC-IHCP. Updated European Union risk assessment report 4,4'-isopropylidenediphenol (bisphenol-A) - Publications Office of the EU [Internet]. JRC Scientific and Technical Reports. [cited 2021 Aug 29]. Available from: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/4c398091-dba8-4f8e-9483-69dc4e8f785b/language-en>
29. Calafat AM, Weuve J, Ye X, Jia LT, Hu H, Ringer S, et al. Exposure to bisphenol A and other phenols in neonatal intensive care unit premature infants. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2009 [cited 2021 Aug 29];117(4):639–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19440505/>
30. Engel LS, Buckley JP, Yang G, Liao LM, Satagopan J, Calafat AM, et al. Predictors and variability of repeat measurements of urinary phenols and parabens in a cohort of Shanghai women and men. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2014 [cited 2021 Aug 29];122(7):733–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24659570/>
31. Sun Y, Irie M, Kishikawa N, Wada M, Kuroda N, Nakashima K. Determination of bisphenol A in human breast milk by HPLC with column-switching and fluorescence detection. *Biomed Chromatogr* [Internet]. 2004 Oct [cited 2021 Aug 29];18(8):501–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15386523/>
32. Ye X, Kuklennyik Z, Needham LL, Calafat AM. Measuring environmental phenols and chlorinated organic chemicals in breast milk using automated on-line column-switching-high performance liquid chromatography-isotope dilution tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* [Internet]. 2006 Feb 2 [cited 2021 Aug 29];831(1–2):110–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16377264/>
33. Ikezuki Y, Tsutsumi O, Takai Y, Kamei Y, Taketani Y. Determination of bisphenol A concentrations in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure.

- Hum Reprod [Internet]. 2002 Nov 1 [cited 2021 Aug 29];17(11):2839–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12407035/>
34. Schönfelder G, Wittfoht W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I. Parent bisphenol a accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2002 Nov 1 [cited 2021 Aug 29];110(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12417499/>
 35. Poimenova A, Markaki E, Rahiotis C, Kitraki E. Corticosterone-regulated actions in the rat brain are affected by perinatal exposure to low dose of bisphenol A. *Neuroscience* [Internet]. 2010 May [cited 2021 Aug 29];167(3):741–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20219646/>
 36. Varayoud J, Ramos JG, Muñoz-de-Toro M, Luque EH. Long-Lasting Effects of Neonatal Bisphenol A Exposure on the Implantation Process. In: *Vitamins and Hormones* [Internet]. Vitam Horm; 2014 [cited 2021 Aug 29]. p. 253–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24388194/>
 37. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews [Internet]. Vol. 372, *The BMJ*. BMJ; 2021 [cited 2021 Sep 13]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33782057/>
 38. Jedeon K, De La Dure-Molla M, Brookes SJ, Loiodice S, Marciano C, Kirkham J, et al. Enamel defects reflect perinatal exposure to bisphenol A. *Am J Pathol*. 2013 Jul;183(1):108–18.
 39. Jedeon K, Marciano C, Loiodice S, Boudalia S, Canivenc Lavier MC, Berdal A, et al. Enamel hypomineralization due to endocrine disruptors. *Connect Tissue Res*. 2014;55(SUPPL. 1):43–7.
 40. Jedeon K, Loiodice S, Marciano C, Vinel A, Lavier MCC, Berdal A, et al. Estrogen and bisphenol a affect male rat enamel formation and promote ameloblast proliferation. *Endocrinology*. 2014 Sep 1;155(9):3365–75.
 41. Jedeon K, Berdal A, Babajko A. Impact of three endocrine disruptors, Bisphenol A, Genistein and Vinclozolin on female rat enamel. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol*. 2016 Jun 28;53(1):e28.
 42. Jedeon K, Houari S, Loiodice S, Thuy TT, Le Normand M, Berdal A, et al. Chronic Exposure to Bisphenol A Exacerbates Dental Fluorosis in Growing Rats. *J Bone Miner Res*. 2016 Nov 1;31(11):1955–66.
 43. Jedeon K, Loiodice S, Salhi K, Le Normand M, Houari S, Chaloyard J, et al. Androgen receptor involvement in rat amelogenesis: An additional way for endocrine-disrupting chemicals to affect enamel synthesis. *Endocrinology*. 2016 Nov 1;157(11):4287–96.
 44. Houari S, Loiodice S, Jedeon K, Berdal A, Babajko S. Expression of Steroid Receptors in Ameloblasts during Amelogenesis in Rat Incisors. *Front Physiol* [Internet]. 2016 [cited 2021 Jul 9];7:503. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27853434>
 45. Houari S, Babajko S, Loiodice S, Berdal A, Jedeon K. Micro-dissection of enamel organ from mandibular incisor of rats exposed to environmental toxicants. *J Vis Exp*. 2018 Mar 29;2018(133).
 46. Tang CY, Li AQ, Guan YB, Li Y, Cheng XM, Li P, et al. Influence of polluted SY river on

- child growth and sex hormones. *Biomed Environ Sci*. 2012 Jun;25(3):291–6.
47. Callan AC, Hinwood AL, Heffernan A, Eaglesham G, Mueller J, Odland JØ. Urinary bisphenol A concentrations in pregnant women. *Int J Hyg Environ Health*. 2013 Nov;216(6):641–4.
 48. Frederiksen H, Aksglaede L, Sorensen K, Nielsen O, Main KM, Skakkebaek NE, et al. Bisphenol A and other phenols in urine from Danish children and adolescents analyzed by isotope diluted TurboFlow-LC-MS/MS. *Int J Hyg Environ Health*. 2013 Nov;216(6):710–20.
 49. Frederiksen H, Nielsen JKS, Mørck TA, Hansen PW, Jensen JF, Nielsen O, et al. Urinary excretion of phthalate metabolites, phenols and parabens in rural and urban Danish mother-child pairs. *Int J Hyg Environ Health*. 2013 Nov;216(6):772–83.
 50. Moos RK, Angerer J, Wittsiepe J, Wilhelm M, Brüning T, Koch HM. Rapid determination of nine parabens and seven other environmental phenols in urine samples of German children and adults. *Int J Hyg Environ Health*. 2014 Nov 1;217(8):845–53.
 51. Cutanda F, Koch HM, Esteban M, Sánchez J, Angerer J, Castaño A. Urinary levels of eight phthalate metabolites and bisphenol A in mother-child pairs from two Spanish locations. *Int J Hyg Environ Health*. 2015;218(1):47–57.
 52. Pell T, Eliot M, Chen A, Lanphear BP, Yolton K, Sathyanarayana S, et al. Parental Concern about Environmental Chemical Exposures and Children’s Urinary Concentrations of Phthalates and Phenols. *J Pediatr*. 2017 Jul 1;186:138-144.e3.
 53. Elzein R, Chouery E, Abdel-Sater F, Bacho R, Ayoub F, R E, et al. Molar–incisor hypomineralisation in Lebanon: association with prenatal, natal and postnatal factors. *Eur Arch Paediatr Dent [Internet]*. 2021 Apr 1 [cited 2021 Jul 9];22(2):283–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32889651/>
 54. Michael.D..Shelby. NTP-CERHR Monograph on the potential human reproductive and developmental effects of bisphenol A. Vol. 18, Reproductive Toxicology. 2004. p. 303–90.
 55. Carwile JL, Ye X, Zhou X, Calafat AM, Michels KB. Canned soup consumption and urinary bisphenol A: A randomized crossover trial. Vol. 306, *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2011. p. 2218–20.
 56. Lorber M, Schechter A, Paepke O, Shropshire W, Christensen K, Birnbaum L. Exposure assessment of adult intake of bisphenol A (BPA) with emphasis on canned food dietary exposures. *Environ Int [Internet]*. 2015 Apr 1 [cited 2021 Sep 17];77:55–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25645382/>
 57. Hartle JC, Navas-Acien A, Lawrence RS. The consumption of canned food and beverages and urinary Bisphenol A concentrations in NHANES 2003–2008. *Environ Res [Internet]*. 2016 Oct 1 [cited 2021 Sep 17];150:375–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27362993/>
 58. Von Goetz N, Wormuth M, Scheringer M, Hungerbühler K. Bisphenol A: How the most relevant exposure sources contribute to total consumer exposure. *Risk Anal [Internet]*. 2010 Mar [cited 2021 Sep 15];30(3):473–87. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20136739/>
 59. 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 [Internet]. Vol. 50, Food and Chemical Toxicology. Food Chem Toxicol; 2012 [cited 2021 Sep 15]. p. 3725–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22889897/>
60. Pirard C, Sagot C, Deville M, Dubois N, Charlier C. Urinary levels of bisphenol A, triclosan and 4-nonylphenol in a general Belgian population. Environ Int [Internet]. 2012 Nov 1 [cited 2021 Sep 15];48:78–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22885664/>
 61. Gayrard V, Lacroix MZ, Collet SH, Viguié C, Bousquet-Melou A, Toutain PL, et al. Interpreting bisphenol a absorption in the canine oral cavity: Gayrard et al. Respond [Internet]. Vol. 121, Environmental Health Perspectives. Environ Health Perspect; 2013 [cited 2021 Sep 15]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24284012/>
 62. Braun JM. Early-life exposure to EDCs: Role in childhood obesity and neurodevelopment [Internet]. Vol. 13, Nature Reviews Endocrinology. Nat Rev Endocrinol; 2017 [cited 2021 Aug 29]. p. 161–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27857130/>
 63. Calafat AM, Kuklennyik Z, Reidy JA, Caudill SP, Ekong J, Needham LL. Urinary concentrations of bisphenol A and 4-Nonylphenol in a human reference population. Environ Health Perspect [Internet]. 2005 Apr [cited 2021 Sep 16];113(4):391–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15811827/>
 64. Mallozzi M, Leone C, Manurita F, Bellati F, Caserta D. Endocrine disrupting chemicals and endometrial cancer: An overview of recent laboratory evidence and epidemiological studies [Internet]. Vol. 14, International Journal of Environmental Research and Public Health. Int J Environ Res Public Health; 2017 [cited 2021 Sep 14]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28327540/>
 65. Melnick R, Lucier G, Wolfe M, Hall R, Stancel G, Prins G, et al. Summary of the National Toxicology Program’s report of the endocrine disruptors low-dose peer review. Environ Health Perspect [Internet]. 2002 [cited 2021 Sep 16];110(4):427–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11940462/>
 66. Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR, Lee DH, et al. Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals: Low-Dose Effects and Nonmonotonic Dose Responses. Endocr Rev [Internet]. 2012 Jun [cited 2021 Sep 16];33(3):378–455. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22419778/>
 67. Markey CM, Coombs MA, Sonnenschein C, Soto AM. Mammalian development in a changing environment: Exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity of steroid-hormone target organs. Evol Dev [Internet]. 2003 [cited 2021 Sep 16];5(1):67–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12492412/>
 68. Wetherill YB, Akingbemi BT, Kanno J, McLachlan JA, Nadal A, Sonnenschein C, et al. In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action. 2007 Aug [cited 2021 Sep 14];24(2):178–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17628395/>
 69. Viñas R, Jeng YJ, Watson CS. Non-genomic effects of xenoestrogen mixtures [Internet]. Vol. 9, International Journal of Environmental Research and Public Health. Int J Environ Res Public Health; 2012 [cited 2021 Sep 14]. p. 2694–714. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23066391/>
 70. Kasper-Sonnenberg M, Wittsiepe J, Koch HM, Fromme H, Wilhelm M. Determination of

- bisphenol A in urine from mother-child pairs - Results from the Duisburg birth cohort study, Germany. *J Toxicol Environ Heal - Part A Curr Issues* [Internet]. 2012 Apr 15 [cited 2021 Sep 16];75(8–10):429–37. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22686302/>
71. Palanza P, Howdeshell KL, Parmigiani S, vom Saal FS. Exposure to a low dose of bisphenol A during fetal life or in adulthood alters maternal behavior in mice. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2002 [cited 2021 Sep 14];110(SUPPL. 3):415–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12060838/>
 72. Negashi T, Kawasaki K, Suzaki S, Maeda H, Ishii Y, Kyuwa S, et al. Behavioral alterations in response to fear-provoking stimuli and tranylcypromine induced by perinatal exposure to bisphenol A and nonylphenol in male rats. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2004 [cited 2021 Sep 14];112(11):1159–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15289160/>
 73. Di Donato M, Cerneria G, Giovannelli P, Galasso G, Bilancio A, Migliaccio A, et al. Recent advances on bisphenol-A and endocrine disruptor effects on human prostate cancer. *Mol Cell Endocrinol*. 2017 Dec 5;457:35–42.
 74. Perrot-Appianat M, Kolf-Clauw M, Michel C, Beausoleil C. Alteration of mammary gland development by bisphenol a and evidence of a mode of action mediated through endocrine disruption [Internet]. Vol. 475, *Molecular and Cellular Endocrinology*. *Mol Cell Endocrinol*; 2018 [cited 2021 Sep 14]. p. 29–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30048677/>
 75. Ceccarelli I, Della Seta D, Fiorenzani P, Farabollini F, Aloisi AM. Estrogenic chemicals at puberty change ER α in the hypothalamus of male and female rats. *Neurotoxicol Teratol* [Internet]. 2007 Jan [cited 2021 Sep 14];29(1):108–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17157476/>
 76. Della Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessì-Fulgheri F, Farabollini F. Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Horm Behav* [Internet]. 2006 Aug [cited 2021 Sep 14];50(2):301–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16716326/>
 77. Durando M, Kass L, Piva J, Sonnenschein C, Soto AM, Luque EH, et al. Prenatal bisphenol a exposure induces preneoplastic lesions in the mammary gland in wistar rats. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2006 Aug 29 [cited 2021 Sep 14];115(1):80–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17366824/>
 78. Gioiosa L, Fissore E, Ghirardelli G, Parmigiani S, Palanza P. Developmental exposure to low-dose estrogenic endocrine disruptors alters sex differences in exploration and emotional responses in mice. *Horm Behav* [Internet]. 2007 Sep [cited 2021 Sep 14];52(3):307–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17568585/>
 79. Ho SM, Tang WY, Belmonte De Frausto J, Prins GS. Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. *Cancer Res* [Internet]. 2006 Jun 1 [cited 2021 Sep 14];66(11):5624–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16740699/>
 80. Howdeshell KL, Hotchkiss AK, Thayer KA, Vandenberg JG, Vom Saal FS. Environmental toxins: Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature* [Internet]. 1999 Oct 21 [cited 2021 Sep 14];401(6755):763–4. Available from:

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10548101/>
81. Laviola G, Gioiosa L, Adriani W, Palanza P. D-Amphetamine-related reinforcing effects are reduced in mice exposed prenatally to estrogenic endocrine disruptors. In: *Brain Research Bulletin* [Internet]. *Brain Res Bull*; 2005 [cited 2021 Sep 14]. p. 235–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15811586/>
 82. Murray TJ, Maffini M V., Ucci AA, Sonnenschein C, Soto AM. Induction of mammary gland ductal hyperplasias and carcinoma in situ following fetal bisphenol A exposure. *Reprod Toxicol* [Internet]. 2007 Apr [cited 2021 Sep 14];23(3):383–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17123778/>
 83. Ryan BC, Vandenberg JG. Developmental exposure to environmental estrogens alters anxiety and spatial memory in female mice. *Horm Behav* [Internet]. 2006 Jun [cited 2021 Sep 14];50(1):85–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16540110/>
 84. Timms BG, Howdeshell KL, Barton L, Bradley S, Richter CA, Vom Saal FS. Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2005 May 10 [cited 2021 Sep 14];102(19):7014–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15867144/>
 85. Simmer JP, Hu Y, Lertlam R, Yamakoshi Y, Hu JCC. Hypomaturation enamel defects in *Klk4* knockout/*LacZ* knock in mice. *J Biol Chem* [Internet]. 2009 Jul 10 [cited 2021 Sep 19];284(28):19110–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19578120/>
 86. Robinson C, Kirkham J, Brookes SJ, Shore RC. The Role of Albumin in Developing Rodent Dental Enamel: A Possible Explanation for White Spot Hypoplasia. *J Dent Res* [Internet]. 1992 [cited 2021 Sep 19];71(6):1270–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1319435/>
 87. Lindemeyer RG, Gibson CW, Wright TJ. Amelogenesis imperfecta due to a mutation of the enamel gene: Clinical case with genotype-phenotype correlations. *Pediatr Dent* [Internet]. 2010 Jan [cited 2021 Sep 20];32(1):56–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20000000/>
[/pmc/articles/PMC2842984/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20000000/)
 88. Chan HC, Estrella NMRP, Milkovich RN, Kim JW, Simmer JP, Hu JCC. Target gene analyses of 39 amelogenesis imperfecta kindreds. *Eur J Oral Sci* [Internet]. 2011 Dec [cited 2021 Sep 20];119(SUPPL.1):311–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22243262/>
 89. Jeremias F, Koruyucu M, Küchler EC, Bayram M, Tuna EB, Deeley K, et al. Genes expressed in dental enamel development are associated with molar-incisor hypomineralization. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2013 [cited 2021 Sep 20];58(10):1434–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23790503/>
 90. Trasande L, Zoeller RT, Hass U, Kortenkamp A, Grandjean P, Myers JP, et al. Estimating burden and disease costs of exposure to endocrine-disrupting chemicals in the European Union. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2021 Sep 13];100(4):1245–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25742516/>