

Aus dem Institut für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC):
Ein qualitativer und quantitativer Nachweis der
Monomerfreisetzung aus kieferorthopädischen Werkstoffen

High Performance Liquid Chromatography (HPLC):
Identification and quantitative analysis of monomers eluting
from orthodontic materials

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Benjamin Jakob Kux

aus Köln

Datum der Promotion: 03.03.2023

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	i
Abbildungsverzeichnis	ii
Abkürzungsverzeichnis	iii
Zusammenfassung	1
Abstract	3
1 Einleitung	4
1.1 Werkstoffe in der Zahnmedizin und in der Kieferorthopädie	4
1.2 Zusammensetzung acrylhaltiger kieferorthopädischer Materialien	4
1.3 Die Wirkung von Monomeren auf den Organismus	6
1.4 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	7
1.5 Zielsetzung	8
2 Material und Methodik	9
2.1 Untersuchte Materialien	9
2.1.1 BrackFix®	9
2.1.2 Transbond™ LR	10
2.1.3 Transbond™ Plus	10
2.1.4 Transbond™ XT	11
2.1.5 Triad® Gel	12
2.2 Probenherstellung und Versuchsaufbau	13
2.2.1 Probekörperherstellung	13
2.3 Analyse mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	18
2.3.1 Aufbau und Parameter der HPLC	18
2.3.2 Analyse anhand von Kalibrierungsstandards	19
2.4 Datenverarbeitung und statistische Analyse	21
3. Ergebnisse	22
3.1 Materialbezogene Ergebnisse	23

3.1.1 BrackFix®	24
3.1.2 Transbond™ LR	25
3.1.3 Transbond™ Plus	27
3.1.4 Transbond™ XT	28
3.1.5 Triad® Gel	29
3.2 Substanzbezogene Ergebnisse	30
3.2.1 Bisphenol-A	30
3.2.2 Triethylenglycoldimethacrylat	32
3.2.3 Urethandimethacrylat	33
4. Diskussion	34
4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse	34
4.2 Interpretation der Ergebnisse	34
4.3 Einbettung der Ergebnisse in den bisherigen Forschungsstand	36
4.4 Bewertung der Studie	39
4.5 Implikationen für die zukünftige Forschung	43
4.6 Implikationen für die Praxis	43
5. Schlussfolgerungen	47
Literaturverzeichnis	48
Eidesstattliche Versicherung	53
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen	54
Auszug aus der Journal Summary List	55
Originalpublikation	59
Lebenslauf	73
Publikationsliste	75
Danksagung	76

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Abmessungen der Probekörper im Polyoxymethylen-Ring.....	14
Tab. 2: Gewählte Polymerisationsparameter zur Herstellung der Probekörper	14
Tab. 3: Zeitpunkte der Probenentnahme im Versuchsprotokoll	17
Tab. 4: Aufbau und gewählte Parameter der HPLC	18
Tab. 5: Zusammensetzung des Kalibrierungsstandards	20
Tab. 6: Probekörpergewicht untersuchter Materialien.....	22
Tab. 7: Qualitative und quantitative Messergebnisse eluierter Substanzen.....	23

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Herstellung der Probekörper	15
Abb. 2:	Elutionsphase und Probenentnahme	17
Abb. 3:	Chromatogramm des Kalibrierungsstandards in Kunstspeichel	19
Abb. 4:	Freisetzung von BPA aus BrackFix®	24
Abb. 5:	Freisetzung von BPA aus Transbond™ LR.....	25
Abb. 6:	Freisetzung von TEGDMA aus Transbond™ LR	26
Abb. 7:	Freisetzung von BPA aus Transbond™ Plus	27
Abb. 8:	Freisetzung von BPA aus Transbond™ XT.....	28
Abb. 9:	Freisetzung von UDMA aus Triad® Gel	29
Abb. 10:	Kumulierte Freisetzung von BPA aus BrackFix®, Transbond™ LR, - Plus und – XT	31
Abb. 11:	Kumulierte Freisetzung von TEGDMA aus Transbond™ LR	32
Abb. 12:	Kumulierte Freisetzung von UDMA aus Triad® Gel	33

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACN	Acetonitril
AG	Aktiengesellschaft
AUC	Area Under Curve, Fläche unter der Kurve
Bis-EMA	ethoxylated-Bisphenol-A-glycol-dimethacrylate
Bis-GMA	Bisphenol-A-Glycidyl-methacrylat
BPA	Bisphenol-A
CA	California State, Bundesstaat Kalifornien
ca.	circa
CAD/CAM	Computer-aided design and Computer-aided manufacturing, rechnerunterstützte Konstruktion und Fertigung
CAS	Chemical Abstract Service
CQ	Campherquinon, Campherchinon
DGKFO e. V.	Deutsche Gesellschaft für Kieferorthopädie eingetragener Verein
DIN	Deutsches Institut für Normierung
EFSA	European Food Safety Authority, Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit
EN	Europäische Norm
et al.	et alii, und andere
EU	Europäische Union
FDA	United States Food and Drug Administration
GC	Gaschromatographie
GC/MS	Gaschromatographie gekoppelt mit einer Massenspektrometrie
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
HEMA	Hydroxyethylmethacrylat

HPLC	High Performance Liquid Chromatographie, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HQ	Hydroquinone, Hydrochinon
Inc.	Incorporated
IQR	Interquartile range, Interquartilbereich
ISO	International Organization for Standardization, Internationale Organisation für Standardisierung
KG	Kommanditgesellschaft
LC/MS	Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie
LED	light-emitting diode, lichtemittierende Diode
MA	Massachusetts State, Bundesstaat Massachusetts
MIH	Molar-Inzisivus-Hypomineralisation
MMA	Methylmethacrylat
NY	New York State, Bundesstaat New York
PA	Pennsylvania State, Bundesstaat Pennsylvania
POM	Polyoxymethylen
SD, \pm SD	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TEGDMA	Triethylenglycoldimethacrylat
UDMA	Urethandimethacrylat
USA	United States of America, Vereinigte Staaten von Amerika
UT	Utah State, Bundesstaat Utah
UV	Ultraviolettstrahlung
UVA	Ultraviolettstrahlung A (350-315 nm)
WA	Washington State, Bundesstaat Washington

Zusammenfassung

Die kritische Auseinandersetzung mit Werkstoffeigenschaften und potenziellen Nebenwirkungen von in einer Therapie verwendeten Materialien ist obligat für Zahnmediziner*innen. Die Freisetzung von Monomeren aus alltäglich genutzten Kunststoffen und deren Einflüsse auf den menschlichen Organismus sind ein breit diskutiertes Thema. Die Kieferorthopädie bedient sich diverser Werkstoffe, unter anderem acrylhaltige Polymeren. Ziel dieser In-vitro-Studie war der qualitative und quantitative Nachweis der Monomerfreisetzung aus dentalen Adhäsiven.

Im Fokus der Untersuchung standen fünf kieferorthopädische Materialien verschiedener Indikationen, die primär in der Behandlungsphase mit festsitzenden Apparaturen Anwendung finden: BrackFix® (VOCO, Cuxhaven, Deutschland), Triad® Gel (DeguDent, Hanau, Deutschland), Transbond™ XT, LR und Plus (3M Unitek, Monrovia, CA, USA). Konform mit DIN EN ISO 10993-13 und weiteren Schritten der Standardisierung wurden Probekörper über einen Zeitraum von fünf Wochen im Elutionsmedium Kunstspeichel (Typ Fusayama) bei Körpertemperatur (37 °C) gelagert.

Die anschließende Analyse der Proben auf freigesetzte Monomere wurde mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) durchgeführt. Die Weiterverarbeitung der Daten erfolgte mit Hilfe von Shimadzu Class VP 4.7 (Shimadzu, Kyoto, Japan), Excel for Mac 16.23 (Microsoft, Redmond, WA, USA), SPSS Statistics 26 (IBM, Armonk, NY, USA) und OriginPro 2019 (OriginLab, Northampton, MA, USA).

Die Freisetzung verschiedener Substanzen war bei allen Materialien über den Untersuchungszeitraum von fünf Wochen nachweisbar. Neben der Elution von gering konzentrierten und nicht identifizierten Substanzen erfolgte eine qualitative und quantitative Analyse für Bisphenol-A (BPA), Triethylenglycoldimethacrylat (TEGDMA) und Urethandimethacrylat (UDMA). BPA eluierte aus Transbond™ Plus, - XT, - LR und BrackFix®. Die gemessenen kumulierten Mittelwerte von BPA differieren je nach Material von 16,04 ppm bis 64,83 ppm. TEGDMA eluierte aus Transbond™ LR mit einem Mittelwert von 688,61 ppm. UDMA mit einem Mittelwert von 1682,00 ppm aus Triad® Gel. Die initialen Perioden zeigten maximale Elutionsraten bei allen Materialien.

Die Analyse mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie konnte die Elution von drei nachweislich gesundheitsschädigenden Monomeren aus fünf kieferorthopädischen Materialien belegen. Alle gemessenen Konzentrationen unterschreiten aktuelle offizielle Grenzwerte der maximal empfohlenen Aufnahmemenge. Geringe Dosen, eine

kumulative Exposition und alternative Wege der Aufnahme in den menschlichen Organismus sind bekannt und stehen unter Verdacht, gesundheitsschädigende Effekte auszulösen. Explizit junge Patient*innen im Wachstum stellen eine Risikogruppe dar. Maßnahmen zur reduzierten Exposition von Patient*innen sowie der Arbeitsschutz von zahnmedizinischen Personal sollte beachtet werden. Weitere Untersuchungen zu Elutionsprozessen und Grenzwerte sind zu diskutieren.

Abstract

It is compulsory for dental professionals to study properties and potential side effects of materials used during treatment. The elution of monomers from plastics in daily use and their influence on the human organism is part of an ongoing controversy. Orthodontists make use of several different materials, amongst others acrylic polymers. Goal of this in-vitro study was the identification and quantification of monomers eluting from dental adhesives, with a focus on five orthodontic materials with different indications, mostly used in treatments with fixed orthodontic appliances: BrackFix® (VOCO, Cuxhaven, Germany), Triad® Gel (DeguDent, Hanau, Germany), Transbond™ XT, - LR and - Plus (3M Unitek, Monrovia, CA, USA).

In accordance with DIN EN ISO 10993-13 and further steps for standardization, specimen were immersed in artificial saliva (Type Fusayama) for a period of five weeks at body-temperature (37 °C). Aliquots were analyzed by high-pressure liquid chromatography (HPLC). For processing of the obtained data, Class VP 4.7 (Shimadzu, Kyoto, Japan), Excel for Mac 16.23 (Microsoft, Redmond, WA, USA), SPSS Statistics 26 (IBM, Armonk, NY, USA) and OriginPro 2019 (OriginLab, Northampton, MA, USA) were used.

An elution of different substances from all five materials after the period of 35 days was detectable. Besides unequivocally and low-concentrated substances, an identification and quantification of BPA, TEGDMA and UDMA was conducted. Transbond™ Plus, - XT, - LR and BrackFix® eluted BPA. The cumulated mean values for BPA after five weeks differ between 16,04 ppm and 64,83 ppm, depending on the material. TEGDMA eluted from Transbond™ LR with a mean of 688,61 ppm. UDMA with a mean of 1682,00 ppm from Triad® Gel. The highest ratios of eluted substances per time unit were measured for the initial period for every material.

The analysis by a high-pressure liquid chromatography confirmed the elution of three substances from five orthodontic materials, proven to be harmful to health. The detected concentrations were all below the statutory thresholds, considered health threatening by authorities. Low dose effects, a cumulated exposition and alternative ways of uptake of monomers in everyday life to the human organism should be taken into consideration. An exposure management of patients and dental professionals is indicated. Further investigations and thresholds should be open for discussion.

1 Einleitung

1.1 Werkstoffe in der Zahnmedizin und in der Kieferorthopädie

Die bewusste Auseinandersetzung mit zahnmedizinischen Werkstoffen führt stetig zu neuem Forschungsbedarf mit Erkenntnisgewinnen und Weiterentwicklungen. Zahnärzt*innen sollten sich vor dem Einsatz verschiedener Materialien im Therapieverlauf der Werkstoffeigenschaften, Vor- und Nachteile sowie potenzieller Nebenwirkungen bewusst sein. Eine Auseinandersetzung mit mutmaßlich gesundheitsschädigenden Nebenwirkungen wird seit mehreren Jahren über den ehemals breiten Einsatz von Amalgam als dentales Füllungsmaterial geführt (1). Als mögliche Alternativen bei Füllungstherapien stehen unter anderem Glasionomerezemente oder Komposite zur Wahl. Besonders Komposite setzen sich vermehrt durch. Hersteller und Werkstoffeigenschaften versprechen eine lange Haltbarkeit, eine gute Verarbeitung und die Erfüllung hoher ästhetischer Ansprüche. Weitere dentale Werkstoffe reichen von verschiedenen Abformmaterialien und Kunststoffvarianten über metallische Legierungen bis zu Keramiken, die zur Herstellung von Zahnersatz, Implantaten und in weiteren Anwendungsbereichen genutzt werden (2).

Auch in der Kieferorthopädie wird eine Vielzahl von Werkstoffen verwendet. Neben diversen metallischen Legierungen und Keramiken kommen acrylhaltige Kunststoffe zum Einsatz, die in ihrer Zusammensetzung denen von Füllungskunststoffen ähneln (3). Man findet diese Komposite zum Beispiel in herausnehmbaren Apparaturen im Sinne von funktionskieferorthopädischen Geräten, Schienen zur Zahnbewegung (Aligner) oder Retentionsgeräten. Des Weiteren werden festsitzende Apparaturen wie Multiband- / Multibracketapparaturen und linguale Retainer eingesetzt. Ein Haftverbund zwischen Apparatur und Zahn wird unter anderem durch den Einsatz von Kompositen erzielt.

1.2 Zusammensetzung acrylhaltiger kieferorthopädischer Materialien

Kieferorthopädische und dentale Komposite bestehen aus drei Hauptbestandteilen: Eine organische Matrix, eine disperse Phase mit anorganischen Füllstoffen wie zum Beispiel Quarz oder Silikate sowie eine nötige Verbundphase mit Alkoxysilanen. Die organische Matrix besteht aus hochmolekularen Monomeren. Hierbei handelt es sich fast

ausschließlich um Dimethacrylate, die das Schrumpfen während der Polymerisation verringern. Hauptvertreter dieser Gruppe sind Bis-GMA (Bisphenol-A-Glycidylmethacrylat) und UDMA (Urethandimethacrylat). Zur Verbesserung der Fließfähigkeit werden niedermolekulare Komonomere wie zum Beispiel HEMA (Hydroxyethylmethacrylat) oder TEGDMA (Triethylenglycoldimethacrylat) hinzugefügt. Weitere organische Bestandteile können Initiatoren und Inhibitoren zur Beeinflussung der Polymerisationsreaktion, Oligomere und weitere Stoffe sein. Das Mengenverhältnis der Verdünner zu den Basismonomeren bestimmt ausschlaggebend die Materialeigenschaften und die Monomer-Polymer-Konversion (4, 5).

Eine Polymerisationsphase ist bei der Verarbeitung dieser Komposite obligat. Man unterscheidet diverse Polymerisationsprinzipien: Heißpolymerisation, Mikrowellenpolymerisation, Licht- / Photopolymerisation, Kalt- / Autopolymerisation und weitere. Die in dieser Studie verwendeten Werkstoffe sind zu photopolymerisieren. Durch UVA-Strahlung (380-315 nm) und sichtbares Licht im blauen Bereich werden freie Radikale erzeugt, welche die Vernetzung der Monomere, oder genauer die Verbindung ihrer Methacrylgruppen, initiieren. Eine Umwandlung von Monomer zu Polymer wird nie vollständig erreicht, so dass ein bestimmter Anteil an Restmonomeren im ausgehärteten Kunststoff verbleibt. Der Grad der Umsetzung wird als Konversionsrate bezeichnet, sie ist bei jedem Kunststoff unterschiedlich hoch und von vielen Faktoren, wie Zeit der Lichtzufuhr oder Art der Lichtquelle, abhängig (6).

Kieferorthopädische Apparaturen und somit die verarbeiteten Kunststoffe verbleiben von wenigen Minuten bis zu mehreren Jahren in der Mundhöhle. Dabei wirken weitere extreme Einflüsse auf die Werkstoffe ein, welche die Materialeigenschaften, -beständigkeit und Biodegradation beeinflussen können. Wichtige Variablen sind pH-Wert und thermische Schwankungen sowie enzymatische, bakterielle oder mechanische Faktoren. Als Beispiele sind unterschiedliche Nahrungsmittel, verschiedene Speichelzusammensetzungen, muskuläre Aktivitäten beim Kauen und Sprechen und resultierender mechanischer Stress im Sinne von Dimensionsveränderungen zu nennen.

1.3 Die Wirkung von Monomeren auf den Organismus

Monomeren werden verschiedene lokale und systemische Reaktionen im Organismus zugeschrieben (7-9). Die zuvor dargestellten äußeren Einflüsse führen zur Freisetzung von Restmonomeren und weiteren Degradationsprodukten aus kieferorthopädischen Apparaturen, die durch Speichel eluiert werden und in den Organismus gelangen können. Im Fokus bisheriger Untersuchungen zur Freisetzung von Monomeren aus dentalen und kieferorthopädischen Materialien stand neben TEGDMA und UDMA primär BPA (10-14). Diese Substanzen konnten auch in verschiedenen Geweben und Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden (7, 15-18).

Monomere besitzen allergenes Potential. Die allergische Kontaktdermatitis wurde sowohl bei zahnmedizinischem Personal als auch bei Patient*innen beschrieben. Insbesondere niedermolekulare Komonomere weisen ein erhöhtes Potential auf und können aufgrund ihrer niedrigen Molekülgröße zum Beispiel Handschuhe in wenigen Minuten penetrieren. Lokale Schäden und Entzündungsreaktionen der Gingiva und angrenzender Gewebe sind in der Literatur erwähnt (19, 20).

Zytotoxische Effekte wie die Induktion von Apoptose und Nekrose in Zellkulturen wurden bei variierenden Konzentrationen nachgewiesen (21, 22). Je mehr Restmonomere im ausgehärteten Kunststoff vorhanden sind, desto stärker fällt die toxische Reaktion aus. BPA, das im Basismonomer Bis-GMA enthalten ist, kann östrogene Effekte entfalten und folglich die Fruchtbarkeit und Funktion der Geschlechtsorgane beeinflussen (23).

Des Weiteren konnte Mutagenität im Sinne der Fähigkeit zur Induktion von DNA-Doppelstrangbrüchen in humanen Gingivafibroblasten in Untersuchungen mittels Gamma-H2AX Test nachgewiesen werden (24). Bis-GMA führte in dieser Untersuchung verschiedener Komposite zu den meisten Doppelstrangbrüchen.

Weitergehend werden teratogene (25) und neurotoxische (26) Wirkungen diskutiert. Ein Zusammenhang zwischen einer frühen Exposition von Monomeren und Molar-Inzisivus-Hypomineralisation (MIH) (27) sowie ein Einfluss auf die psychosoziale Gesundheit von Kindern werden vermutet (28).

Diskussionen über umwelt- und gesundheitsschädigende Wirkungen von Polymeren sind alltäglich und führen stetig zu weiteren Studien, Erkenntnissen und Restriktionen. In der Folge haben die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA – European Food Safety Authority) und die behördliche Lebensmittelüberwachung und Arzneimittelzulassungsbehörde der USA (FDA - U.S. Food and Drug Administration)

Richtlinien, Grenzwerte und Verbote erlassen (29). Die EFSA gibt in einer 2015 verabschiedeten Richtlinie einen strikteren Grenzwert der „tolerierbaren Aufnahmemenge“ für BPA mit $4 \mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht/d an (30). Zuvor ist eine maximale Aufnahmemenge von $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht/d benannt worden. Bereits seit 2011 existiert ein EU-weites Verbot von BPA in Saugerflaschen. Viele europäische Länder reagieren mit ähnlichen und tiefer greifenden Restriktionen (31).

Für weitere Monomere wie TEGDMA und UDMA bestehen trotz diverser beschriebener lokaler, systemischer und synergistischer Effekte bis heute keine offiziellen Grenzwerte zur Aufnahme oder Verarbeitung.

1.4 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, meist aus dem Englischen abgekürzt mit HPLC (High Pressure Liquid Chromatography oder High Performance Liquid Chromatography), erlaubt es, verschiedene Substanzen einer Probe voneinander zu trennen sowie qualitativ und quantitativ zu analysieren.

Im Aufbau der HPLC unterscheidet man grundsätzlich eine mobile und eine stationäre Phase. Die mobile Phase, auch als Laufmittel bezeichnet, wird mittels einer Pumpe in das System gefördert. Die zu untersuchende Probe gelangt mithilfe eines (automatisierten) Probengebers in die Anlage und wird nun zusammen mit dem Laufmittel durch die Trennsäule gepumpt, die die stationäre Phase enthält.

Es werden verschiedene Methoden im Bereich der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie unterschieden. Die häufigste und hier angewandte ist die Umkehrphasenchromatographie (Reversed-Phase-Chromatography) (32). Diese zeichnet sich durch eine polare mobile Phase und eine apolare stationäre Phase aus. Gängige mobile Phasen bestehen aus einer Mischung aus Wasser und Methanol oder Acetonitril. Die stationäre apolare Phase besteht aus unterschiedlich langkettigen Kohlenwasserstoffen, gebunden an eine Silika- oder Hybridbasis in der Trennsäule. Diese stationäre Phase weist Mikroteilchen mit unterschiedlichen Größen auf. Durch den resultierenden Widerstand müssen die Probe und die mobile Phase mit hohem Druck über das chromatographische Bett der Säule gepumpt werden.

Der Trennvorgang basiert auf den unterschiedlich starken Wechselwirkungen zwischen einzelnen Substanzen der Probe mit der mobilen und stationären Phase. Bei höherer

Affinität einzelner Substanzen zur mobilen Phase wandern Substanzen schneller oder bei höherer Affinität zur stationären Phase entsprechend langsamer durch die Säule. Bei richtiger Auswahl von Lösungsmittel und Säule erfolgt eine schnelle und optimale Trennung. Vorsäulen, die der Trenn- bzw. Hauptsäule vorgeschaltet werden, sollen als zusätzlicher Filter dienen, um Verschmutzungen der stationären Phase zu vermeiden und vergleichbare Trennergebnisse zu ermöglichen (33).

Nach der Hauptsäule werden die aufgetrennten Substanzen mit einem nachgeschalteten Detektor, hier UV-Detektor, ermittelt. Durch Signalumwandlung erscheinen Peaks zu unterschiedlichen Retentionszeiten in einem Chromatogramm.

Die qualitative und quantitative Bestimmung erfolgt durch einen Abgleich mit dem nach derselben Methodik analysierten Standards, welche Reinsubstanzen in bekannten Konzentrationen enthalten. Anhand der Retentionszeiten der Peakmaxima im Chromatogramm der Probe und der des Standards können die Peaks der Probe einer Reinsubstanz im Standard zugeordnet werden. Die Fläche unterhalb des Peaks (AUC – Area Under Curve) gibt quantitative Aufschlüsse.

1.5 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden In-vitro-Untersuchung war der qualitative und quantitative Nachweis der Freisetzung von Monomeren aus acrylhaltigen Adhäsiven mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC). Im Fokus standen Materialien der festsitzenden Kieferorthopädie unterschiedlicher Indikationen, welche in Kunstspeichel bei Körpertemperatur über 5 Wochen eluiert wurden.

2 Material und Methodik

2.1 Untersuchte Materialien

Fünf lichthärtende acrylhaltige Polymere verschiedener Indikationen aus der Kieferorthopädie, welche primär Anwendung in der festsitzenden Behandlungsphase finden, wurden nach Studium der offiziellen und aktuellen Produktinformationsblätter, Sicherheitsdatenblätter und Internetpräsenzen für diese Untersuchung ausgewählt (Stand: April 2018).

Im Folgenden werden, gestützt auf die deutschsprachigen Sicherheitsdatenblätter, die einzelnen Materialien hinsichtlich der Indikationen, der Informationen zur Verarbeitung und der Herstellerangaben zu den Inhaltsstoffen beschrieben. Bezeichnungen, CAS-Registrierungsnummern (Chemical Abstract Service) und Gewichtsanteile wurden entsprechend der Herstellerangaben übertragen, soweit angegeben.

2.1.1 BrackFix®

Das Produkt BrackFix® der Firma VOCO aus Cuxhaven, Deutschland, ist ein licht-härtendes Adhäsiv für die direkte Befestigung metallischer und keramischer Brackets an der Zahnoberfläche. Durch Beimischung eines fluoreszierenden Farbstoffes soll bei einer Belichtung mit UVA-Licht ($365 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$) das rückstandlose und zahnhartsubstanzschonende Entfernen der Kunststoffreste nach Einsetzen und Entfernen der Brackets ermöglicht werden.

Zur Polymerisation wird eine Lichtintensität von min. 1000 mW/cm^2 für 20 Sekunden bei einem Abstand von 1-2 mm zur Lichtquelle empfohlen.

Angaben zu Bestandteilen laut Sicherheitsdatenblatt (Version: 1; 31.08.2017):

- Bis-GMA
 - CAS-Nummer: 1565-94-2
 - Gewichtsanteil: 10 - 25 %
- Bis-EMA
 - CAS-Nummer: 41637-38-1
 - Gewichtsanteil: 5 - 10 %

2.1.2 Transbond™ LR

Transbond™ LR der Firma 3M Unitek aus Monrovia (CA, USA) dient der Befestigung von lingualen Drahtretainern. Der Hersteller verspricht eine leichte Applizierbarkeit und optimale Materialeigenschaften zur Ausarbeitung des Adhäsives bei hoher Haftkraft und einen hohen Patient*innenkomfort.

Zur Photopolymerisation wird die Ortholux™ Luminos Polymerisationslampe empfohlen. Diese hat eine Lichtintensität von 1600 mW/cm². Ein Aushärten für 10 Sekunden je Klebestelle ist ausreichend. Angaben zum Abstand zur Lichtquelle werden nicht gemacht.

Angaben zu Bestandteilen laut Sicherheitsdatenblatt (Version: 3.00; 29.11.2017):

- Quarz mit Silan behandelt
 - CAS-Nummer: 100402-78-6
 - Gewichtsanteil: 75 - 85 %
- Bisphenol-A-diglycidylmethacrylat
 - CAS-Nummer: 1565-94-2
 - Gewichtsanteil: 5 - 15 %
- 2,2'-Ethyldioxydiethylmethacrylat
 - CAS-Nummer: 109-16-0
 - Gewichtsanteil: 5 - 15 %
- Silan, Dichlordimethyl, Reaktionsprodukt mit Siliciumdioxid
 - CAS-Nummer.: 68611-44-9
 - Gewichtsanteil: < 2 %
- Ethyl-4-dimethylaminobenzoat
 - CAS-Nummer: 10287-53-3
 - Gewichtsanteil: < 0,3 %
- Diphenyliodoniumhexafluorophosphat
 - CAS-Nummer: 58109-40-3
 - Gewichtsanteil: < 0,1 %

2.1.3 Transbond™ Plus

Transbond™ Plus (3M Unitek, Monrovia, CA, USA) ist ein lichthärtendes Einpastensystem, zum Befestigen von Bändern. Durch die als kurz beworbene

Aushärtezeit von 20 Sekunden soll das Risiko der Kontamination mit Feuchtigkeit (z. B. Speichel) reduziert werden. Die blaue Färbung soll bei Be- und Entbänderung das Entfernen von Kunststoffüberschüssen und -resten durch bessere Erkennbarkeit erleichtern.

Laut Gebrauchsanweisung soll das Material mit einem Abstand von 1-2 mm zur Lichtquelle und einer Lichtintensität von 1600 mW/cm² für 30 Sekunden ausgehärtet werden. Der Hersteller empfiehlt gleichzeitig die Verwendung einer Ortholux™ Luminos Polymerisationslampe, mit der laut Internetauftritt des Herstellers nur 3 Sekunden pro Höcker (12 Sekunden insgesamt) zum Aushärten nötig sind.

Angaben zu Bestandteilen laut Sicherheitsdatenblatt (Version: 2.00; 29.02.2016):

- 1,3-Glycerindimethacrylat
 - CAS-Nummer: 1830-78-0
 - Gewichtsanteil: 10 - 20 %
- Oligomer von Zitronensäuredimethacrylat
 - CAS-Nummer: -
 - Gewichtsanteil: 5 - 10 %
- Siliziumdioxid mit Silan behandelt
 - CAS-Nummer: 248596-91-0
 - Gewichtsanteil: < 2 %

2.1.4 Transbond™ XT

Transbond™ XT ist das dritte untersuchte Produkt von 3M Unitek (Monrovia, CA, USA). Es handelt sich um ein weiteres Adhäsiv, das zum Befestigen von Metall- und Keramikbrackets auf der Zahnoberfläche genutzt wird. Der Hersteller hebt eine besondere Viskosität hervor, welche sowohl mehr Zeit zur exakten Positionierung von Brackets bietet als auch das Herunterlaufen von Überschüssen und Gleiten des Brackets auf der Zahnoberfläche vor der Polymerisierung verhindern soll. Ein schnelles Aushärten wird ebenfalls beworben.

Nach einer Polymerisationszeit von 3 Sekunden bei einer Lichtintensität von 1600 mW/cm² und einem Abstand von 2-3 mm soll die Aushärtung bei Keramikbrackets erzielt sein. Metallbrackets sollten von mesial und distal jeweils 3 Sekunden ausgehärtet

werden, Molarenattachments von mesial und okklusal für jeweils 6 Sekunden. Auch hier wird der Einsatz einer Ortholux™ Luminos Polymerisationslampe empfohlen.

Angaben zu Bestandteilen laut Sicherheitsdatenblatt (Version: 2.00; 18.02.2016):

- 2-Propenoic acid, 2-methyl-, 3-(trimethoxysilyl)propyl ester, Reaktionsprodukt mit Siliciumdioxid
 - CAS-Nummer: 10042-78-6
 - Gewichtsanteil: 70 - 80 %
- Bisphenol-A-diglycidylmethacrylat
 - CAS-Nummer: 1565-94-2
 - Gewichtsanteil: 10 - 20 %
- (1-Methylethyliden)bis(4,1-phenylenoxy-2,1-ethandiyl)bismethacrylat
 - CAS-Nummer: 24448-20-2
 - Gewichtsanteil: 5 - 10 %
- Silan, Dichlordimethyl, Reaktionsprodukt mit Siliciumdioxid
 - CAS-Nummer: 68611-44-9
 - Gewichtsanteil: < 2 %
- Diphenyliodiniumhexafluorophosphat
 - CAS-Nummer: 58109-40-3
 - Gewichtsanteil: < 0,2 %

2.1.5 Triad® Gel

Triad® Gel, vertrieben durch die DeguDent in Hanau (Deutschland), ist ein Material mit diversen Indikationen. Der Hersteller gibt unter anderen die Verwendung zur Herstellung von herausnehmbaren kieferorthopädischen Apparaturen an, es wird also eine extraorale Verarbeitung deklariert. Im klinischen Alltag wird Triad® Gel zum Abdecken von scharfen Kanten und Drähten genutzt, um den Patient*innenkomfort zu erhöhen, zum Verschlüsseln von Dehnschrauben nach aktiver Therapiephase oder zum Anfertigen von Aufbissen. Es ist anzumerken, dass die tatsächliche klinische Anwendung somit über die vom Hersteller angegebene Indikation hinausgeht und eine intraorale Verarbeitung durchaus üblich ist.

Im Produktblatt wirbt der Hersteller mit einer monomerfreien Zusammensetzung ohne mögliche Gesundheitsrisiken durch Methyl und Butyl Methacrylat Monomer, wodurch ein

Vorteil für Patient*innen und Behandler*innen erzielt werden soll.

Das Produkt ist in vier Farben erhältlich, die Untersuchung wurde mit der roten Färbung durchgeführt.

Zur Polymerisation werden 30 Sekunden in der Triad® 2000 Light Curing Unit (Dentsply International, York, PA, USA) vorgeschlagen. Im klinischen Alltag wird bei alternativen Indikationen eine herkömmliche Polymerisationslampe verwendet.

Angaben zu Bestandteilen laut Sicherheitsdatenblatt (Version: 1,5 DE; 28.02.2013):

- Urethandimethacrylat
- Siliciumdioxid
- Pigmente
- Initiatoren
- Stabilisatoren

2.2 Probenherstellung und Versuchsaufbau

Der entwickelte Versuchsaufbau orientierte sich an der DIN EN ISO 10993-13 (Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 13: Qualitativer und quantitativer Nachweis von Abbauprodukten in Medizinprodukten aus Polymeren). Weitere Schritte zur Standardisierung und zur Reduktion von potenziellen Fehlerquellen wurden ergänzt.

2.2.1 Probekörperherstellung

Zur einheitlichen Herstellung der Probekörper wurden Ringe aus Polyoxymethylen (POM) zur Formgebung verwendet. Von jedem der 5 zu untersuchenden Materialien wurden jeweils 10 identische Probekörper hergestellt.

Um gleiche Abstände zwischen Material und Polymerisationslampe zu garantieren, wurden für jedes Material individuelle Polymerisationsständer angefertigt. Alle Materialien wurden mit einer Polymerisationslampe vom Typ VALO C0 1516 LED (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, USA) ausgehärtet.

Zur weiteren Kontrolle wurde die LED-Polymerisationslampe vor jeder Probenanfertigung durch ein Photometer (Bluephase® Meter II, Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein)

überprüft. Die Kontrollmessungen erfolgten wie bei der Probenherstellung durch einen Objektträger. Der mittlere Messwert über den gesamten Versuchszeitraum lag bei 1188 mW/cm² (1200 mW/cm² Modus) und bei 1604 mW/cm² (1600 mW/cm² Modus).

Tabelle 2 fasst die an den Herstellerangaben orientierten gewählten Polymerisationsabstände, -dauern und Lichtintensitäten zusammen.

Tab. 1: Abmessungen der Probekörper im Polyoxymethylen-Ring

Durchmesser Probekörper	7,00 mm
Höhe Probekörper	1,50 mm
gesamte Oberfläche Probekörper	109,96 mm ²
exponierte Oberfläche Probekörper	76,97 mm ²
vom POM-Ring bedeckte Oberfläche	32,99 mm ²
Volumen Probekörper	57,73 mm ³

(eigene Darstellung: B. J. Kux)

Tab. 2: Gewählte Polymerisationsparameter zur Herstellung der Probekörper

Material	Abstand	Dauer	Intensität
BrackFix [®]	1 mm	20 s	1200 mW/cm ²
Trandbond [™] LR	2 mm	10 s	1600 mW/cm ²
Trandbond [™] Plus	1 mm	30 s	1600 mW/cm ²
Trandbond [™] XT	2 mm	3 s	1600 mW/cm ²
Triad [®] Gel	2 mm	30 s	1600 mW/cm ²

Abstand zwischen Material und Polymerisationslampe, Dauer und Intensität der Lichteinwirkung.
(eigene Darstellung: B. J. Kux)

Zur Anfertigung der Probekörper wurden die POM-Ringe auf einem Objektträger positioniert, die wiederum auf einem Polymerisationsständer gelagert wurden. Die zu untersuchenden Materialien wurden in die Ringe gefüllt, Überschüsse beseitigt, die gefüllten Ringe durch einen zweiten Objektträger bedeckt und dieser mit einem Gewicht (500 g) beschwert (Abb. 1). Die Polymerisationslampe wurde entsprechend den Angaben

in Tabelle 2 aktiviert. Nach der Aushärtung wurden die Kunststoffplättchen auf Blasenfreiheit überprüft, etwaige Pressfahnen mit einem sterilen Skalpell entfernt und die gefüllten Ringe gewogen.

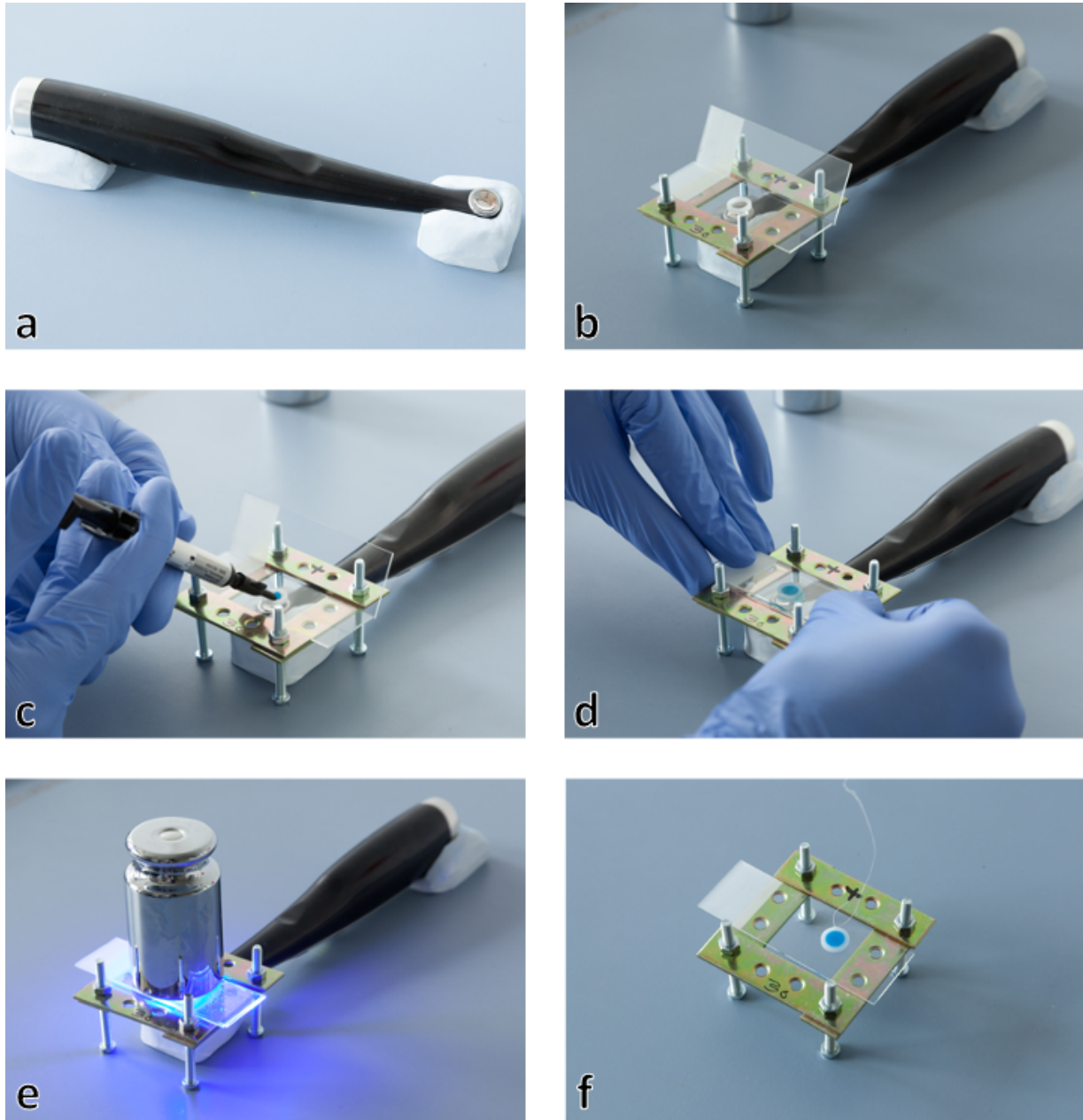


Abb. 1: Herstellung der Probekörper

a) LED-Polymerisationslampe in Fixationsschlüssel; b) POM-Ring auf einem Objektträger und Polymerisationsständer gelagert; c) Befüllen des POM-Rings; d) Abdecken des befüllten POM-Rings mit einem zweiten Objektträger; e) beschwerte Objektträger mit befülltem POM-Ring während des Polymerisationszyklus; f) fertiger Probekörper an Nylonfadenaufhängung (eigene Fotos: B. J. Kux)

2.2.2 Elutionsphase

Auf Grundlage der DIN EN ISO 10993-13 wurde das Verhältnis von Probekörpervolumen und Elutionsmedium bestimmt. Als Elutionsmedium wurde Kunstspeichel Typ Fusayama / Meyer mit einem pH-Wert von 4,9 gewählt (Fusayama/Meyer Artificial Saliva, Pickering Laboratories, Inc., Mountain View, CA, USA). Davon wurden 1,5 mL in ein Reagenzglas mit Teflon-Schraubverschluss pipettiert (20 mL, GL 18, Duran®, Schott AG, Mainz, Deutschland). Die Füllhöhe erlaubte ein vollständiges Eintauchen der Probekörper. Diese wurden mittels eines Nylonfadens (\varnothing 0,16 mm, folia, Max Bringmann KG, Wendelstein, Deutschland) am POM-Ring und am Reagenzglasverschluss fixiert, um eine freie Beweglichkeit im Medium zu ermöglichen (Abb. 1 f und 2 a-c). Um eine gleichmäßige Zirkulation der Probekörper im Elutionsmedium zu unterstützen, wurden die Reagenzgläser auf einen speziell angefertigten runden Reagenzglasständer gelagert. Dieser wurde auf einem Probenschüttler (3D Sunflower Mini Shaker, BioSan, Riga, Latvia) bei einer Rotationsbewegung mit 60 rpm in einem Brutschrank (Heraeus, Hanau, Deutschland) bei 37 °C positioniert. So sollten intraorale Bedingungen mit Fokus auf den Speichelfluss und die Körpertemperatur für alle Proben gleichermaßen simuliert werden. Vorversuche konnten eine Monomerfreisetzung aus Nylonfaden, POM-Ringen und Teflonverschlüssen, isoliert und in Kombination, ausschließen.

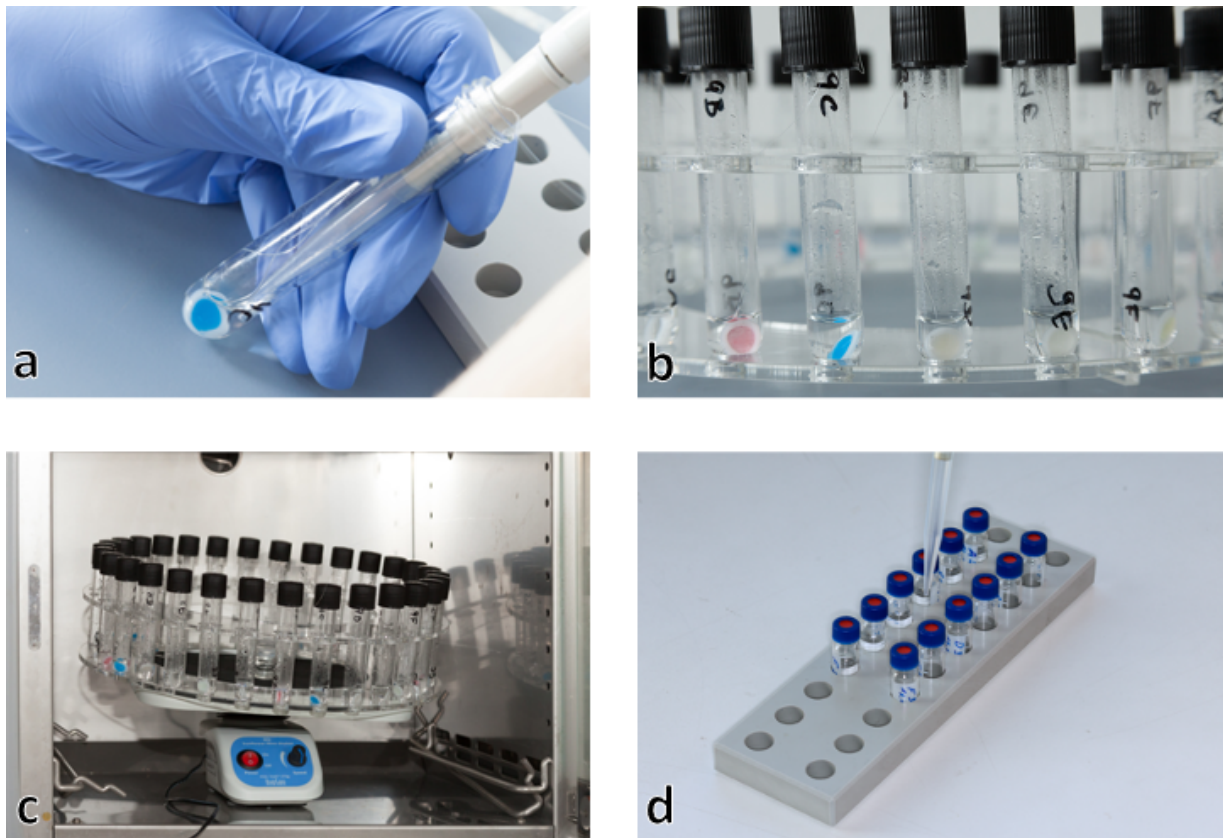
Nach elf Zeitintervallen ($t_1 - t_{11}$) von 30 Minuten bis 35 Tagen (Tabelle 3) wurde jeweils 1 mL der Flüssigkeit aus den Reagenzgläsern (Kunstspeichel, POM-Ring, Probekörper, Nylonfaden) und Reagenzgläsern einer Kontrollgruppe (Kunstspeichel, POM-Ring, Nylonfaden) abpipettiert. Nach jeder Probenentnahme wurde jeweils 1 mL frischer Kunstspeichel dem Reagenzglas wieder zugefügt, dadurch wurde auch der Lösungsdruck auf das Polymer wieder erhöht. Zur Reduzierung von potentiellen Pipettierfehlern verblieben 0,5 mL im Reagenzglas. Dieser Schritt wurde in der Berechnung der Konzentrationen berücksichtigt.

Entnommene Proben wurden zum Schutz vor Kontamination oder Reaktion mit Monomeren oder anderen Substanzen in HPLC-Teströhrchen bei +4 °C gelagert. Ergänzend wurden die Versuche in einem vor direktem UV-Licht geschützten Labor durchgeführt.

Tab. 3: Zeitpunkte der Probenentnahme im Versuchsprotokoll

Zeitpunkt	Elutionsdauer	t6	72 Stunden
t1	30 Minuten	t7	7 Tage
t2	3 Stunden	t8	14 Tage
t3	6 Stunden	t9	21 Tage
t4	24 Stunden	t10	28 Tage
t5	48 Stunden	t11	35 Tage

Pipettierzeitpunkte (t1 - t11) mit Elutionsdauer.
(eigene Darstellung: B. J. Kux)

**Abb. 2: Elutionsphase und Probenentnahme**

a) Zugabe von Kunstspeichels zu den Probekörpern; b) Probekörper im Elutionsmedium;
c) zirkulärer Reagenzglasständer auf Probeschüttler im Brutschrank; d) pipettierte Kunstspeichelproben nach der Elutionsphase in HPLC-Teströhrchen
(eigene Fotos: B. J. Kux)

2.3 Analyse mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Die weitere Analyse der Proben erfolgte mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC).

2.3.1 Aufbau und Parameter der HPLC

Tabelle 4 fasst den Aufbau und die genutzten Parameter der HPLC zusammen, die nach Vorversuchen festgelegt wurden.

Tab. 4: Aufbau und gewählte Parameter der HPLC

	Modell	Hersteller
Systemregler	SCL-10A VP	Shimadzu, Kyoto, Japan
Pumpe A	LC-10AD VP	Shimadzu, Kyoto, Japan
Pumpe B	LC-10AD VP	Shimadzu, Kyoto, Japan
Dioden-Array-Detektor	SPD-M10A VP	Shimadzu, Kyoto, Japan
Injektor	SIL-10A	Shimadzu, Kyoto, Japan
Säulenofen	CTO-10 AS VP	Shimadzu, Kyoto, Japan
Vorsäule	CC 8/3 Nucleosil 100-5 C18 Nautilus	Macherey-Nagel, Düren, Deutschland
Säule	EC 125/2 Nucleosil 100-5 C18 Nautilus	Macherey-Nagel, Düren, Deutschland
Entgaser	Degasys DG-1210	UniFlows, Tokyo, Japan
Software	Class VP 4.7	Shimadzu, Kyoto, Japan
Parameter	Mobile Phase	C ₂ H ₃ N 90 %, aqua dest. 10 %
	Detektion	200 – 340 nm
	Fließgeschwindigkeit	0,25 mL/min
	Temperatur Säulenofen	30 °C

(modifiziert nach Kux et al., 2022 (34))

2.3.2 Analyse anhand von Kalibrierungsstandards

Zur Identifikation und Quantifizierung der unbekannt freigesetzten Substanzen in den Kunstspeichelproben nach der Elutionsphase wurden Kalibrierungsstandards analysiert. Der Vergleich der Chromatogramme von Proben mit denen von Kalibrierungsstandards erlaubt dann, anhand der Retentionszeiten und des Spektrums qualitative Rückschlüsse zu ziehen. Quantitativen Aufschluss geben die Höhe eines Peaks und die Fläche unterhalb (AUC - Area Under Curve), die proportional zur Stoffmenge ist. Ein lineares Verhalten der AUC zur eingewogenen Konzentration von Reinsubstanzen im Kalibrierungsstandard wurde in Vorversuchen bestätigt.

Der in dieser Studie genutzte Kalibrierungsstandard enthielt Reinsubstanzen in bekannten Konzentrationen von Monomeren, die häufig in der Zusammensetzung dentaler und kieferorthopädischer Komposite zu finden sind (Tab. 5). Abbildung 3 zeigt ein entsprechendes Chromatogramm unseres Kalibrierungsstandards in Kunstspeichel. Die Zuweisung der Peaks erfolgte anhand von Retentionszeiten der Reinsubstanzen in Kunstspeichel nach Einzelmessungen in Vorversuchen.

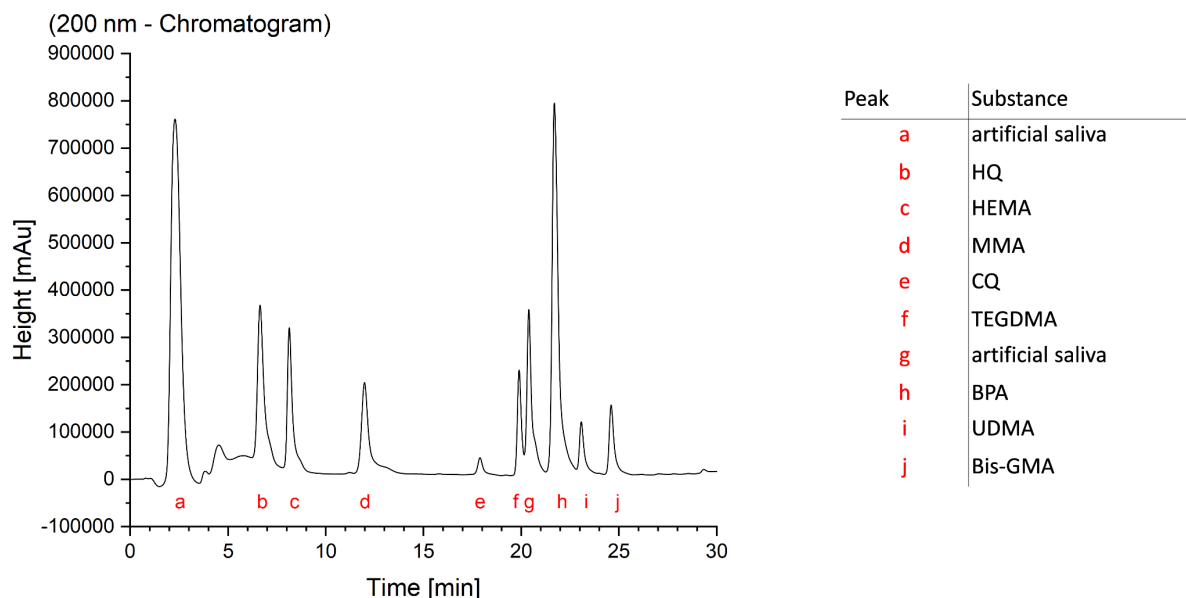


Abb. 3: Chromatogramm des Kalibrierungsstandards in Kunstspeichel

Monomere in Kunstspeichel (artificial saliva) mit entsprechender Zuweisung der Peaks (a - j). Abkürzungen der Monomere sind in Tabelle 5 hinterlegt. Die x-Achse beschreibt die Zeit in Min, die y-Achse die Peakhöhe in mAu.

(aus Kux et al., 2022 (34))

Tab. 5: Zusammensetzung des Kalibrierungsstandards

Reinsubstanzen	Abkürzung	CAS-Nr.	Hersteller
Hydrochinon	HQ	123-31-9	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
2-Hydroxyethylmethacrylat	HEMA	868-77-9	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Methylmethacrylat	MMA	80-62-6	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Camphorchinon	CQ	10373-78-1	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Triethyleneglycoldimethacrylat	TEGDMA	109-16-0	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Bisphenol-A (2,2-Bis(4-hydroxyphenyl) propane,4,4'-Isopropylidenediphenol)	BPA	80-05-7	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Urethandimethacrylat	UDMA	72869-86-4	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Bisphenol-A-Glycidyl-methacrylat	Bis-GMA	1565-94-2	Merz Dental GmbH, Lütjenburg, Deutschland

Verwendete Reinsubstanzen in den Kalibrierungsstandards mit Angabe der Abkürzungen, CAS-Nummern und Hersteller.

(modifiziert nach Kux et al., 2022 (34))

2.4 Datenverarbeitung und statistische Analyse

Die Erstellung und Auswertung der Chromatogramme erfolgte mit Hilfe von Class VP 4.7 (Shimadzu, Kyoto, Japan). Nach Export der gewonnenen Daten erfolgte die Weiterverarbeitung und Analyse mittels Excel for Mac 16.23 (Microsoft, Redmond, WA, USA) und SPSS Statistics 26 (IBM, Armonk, NY, USA). Diagramme zur Visualisierung der Ergebnisse wurden mit Excel und OriginPro 2019 (OriginLab, Northampton, MA, USA) erstellt.

Die Messwerte wurden mittels deskriptiver Statistik analysiert. Die erhobenen Daten zur Elution von Bisphenol-A (BPA) aus vier der fünf Materialien wurden mittels einer zweifachen Varianzanalyse (2-way-ANOVA) analysiert, um den Einfluss von Zeit und verschiedenen Materialien auf den Elutionsprozess zu evaluieren. Da es sich um eine explorative Interaktionsanalyse handelt, muss ebenso der p-Wert als explorativ gewertet werden.

Zur Reduktion von möglichen Fehlerquellen erfolgten die Versuchsdurchführung, individuelle Kontrolle aller Chromatogramme, Datenverarbeitung und statistische Analyse ausschließlich durch B. J. Kux.

3. Ergebnisse

Die Auswertung der erzeugten Chromatogramme von Standards, Kontrollgruppe und Proben ergab einen Nachweis der Freisetzung von Monomeren und weiteren unbekanntem Substanzen aus allen fünf untersuchten Materialien über den Untersuchungszeitraum von bis zu 5 Wochen.

Drei verschiedene Monomere (BPA, UDMA und TEGDMA) konnten anhand ihres Spektrums und der Retentionszeit identifiziert und quantifiziert werden. Weitere Substanzen lagen im Sinne ihrer Peakgröße unter der gesetzten Nachweisschwelle eines AUC-Werts von 100.000 in Class VP 4.7 oder konnten keinem Monomer in den Kalibrierungsstandards verlässlich zugeordnet werden.

Die Kontrollmessungen belegten, dass weder POM-Ring, Nylonfaden noch Teflonkappen die untersuchten Substanzen eluieren. Die Pipettierzeitpunkte und -reihenfolge wurde nach striktem Protokoll eingehalten.

Als Grundlage zur Berechnung der Freisetzung der einzelnen Substanzen wurden die isolierten Gewichte der Probekörper vor der Elutionsphase genutzt, ohne POM-Ring oder Nylon-Faden, aufgelistet in Tabelle 6.

Tab. 6: Probekörpergewicht untersuchter Materialien

Material	Gewicht	± SD
BrackFix®	0,135 g	± 0,006 g
Transbond™ LR	0,140 g	± 0,004 g
Transbond™ Plus	0,129 g	± 0,004 g
Transbond™ XT	0,133 g	± 0,004 g
Triad® Gel	0,071 g	± 0,002 g

*Probekörpergewicht (ohne POM-Ring und Nylonfaden) der untersuchten Materialien im Mittelwert in g mit Standardabweichungen (± SD).
(eigene Darstellung: B. J. Kux)*

3.1 Materialbezogene Ergebnisse

Der nachfolgende Abschnitt stellt die Ergebnisse der Untersuchung zur Freisetzung von Monomeren in Bezug auf einzelne Materialien dar. Besondere Zeitpunkte werden hervorgehoben. Tabelle 7 fasst alle Ergebnisse zusammen. Bezüglich der Boxplotdiagramme (Abbildungen 4 – 9) muss auf die nicht linearen Abstände der Pipettierzeitpunkte und der Dauer der einzelnen Elutionsperioden hingewiesen werden (Tabelle 3). Auf das Elutionsverhalten verschiedener Substanzen im Bezug auf die Zeit wird im Abschnitt 3.2 näher eingegangen.

Tab. 7: Qualitative und quantitative Messergebnisse eluierter Substanzen

Material	Substanz	t1 (30 Min)			t2 (3 h)			t3 (6 h)			t4 (24 h)		
		Mittelwert	Median	± SD	Mittelwert	Median	± SD	Mittelwert	Median	± SD	Mittelwert	Median	± SD
BrackFix™	BPA	1,51	1,39	0,45	1,38	1,44	0,27	1,64	1,56	0,50	2,74	2,78	0,67
Transbond™ LR	BPA	3,06	3,06	0,46	2,74	2,86	0,60	2,01	1,79	0,60	2,97	3,21	0,58
	TEGDMA	208,87	201,57	87,75	139,10	120,93	71,12	62,49	59,94	21,76	111,52	110,80	28,79
Transbond™ Plus	BPA	3,29	3,42	0,67	2,07	2,07	0,40	1,09	1,05	0,36	1,75	1,82	0,43
Transbond™ XT	BPA	3,91	3,68	0,65	6,19	6,25	1,02	4,90	5,06	0,84	9,37	9,08	1,31
Triad@Gel	UDMA	151,19	144,42	24,92	189,08	178,60	43,83	146,28	147,24	34,04	229,41	227,93	30,51

Material	Substanz	t5 (48 h)			t6 (72 h)			t7 (7 d)			t8 (14 d)		
		Mittelwert	Median	± SD	Mittelwert	Median	± SD	Mittelwert	Median	± SD	Mittelwert	Median	± SD
BrackFix™	BPA	2,08	2,14	0,42	1,54	1,59	0,44	1,93	1,99	0,38	1,87	1,81	0,57
Transbond™ LR	BPA	2,05	1,90	0,43	1,56	1,59	0,40	2,18	2,23	0,58	1,91	1,76	0,28
	TEGDMA	39,57	45,43	21,51	23,76	26,72	5,32	37,45	32,32	19,33	28,66	30,85	11,66
Transbond™ Plus	BPA	1,09	1,15	0,60	1,23	1,10	0,54	2,03	2,36	0,80	1,10	1,05	0,23
Transbond™ XT	BPA	7,10	6,94	1,00	5,83	5,71	0,49	7,95	8,48	1,43	5,91	6,05	0,59
Triad@Gel	UDMA	169,19	171,11	44,29	152,23	148,60	36,81	169,87	185,24	43,21	141,76	148,16	41,57

Material	Substanz	t9 (21 d)			t10 (28 d)			t11 (35 d)			kumulativ (t1 - t11)		
		Mittelwert	Median	± SD	Mittelwert	Median	± SD	Mittelwert	Median	± SD	Mittelwert	Median	± SD
BrackFix™	BPA	1,55	1,57	0,36	1,60	1,66	0,43	1,57	1,60	0,25	19,44	19,72	1,91
Transbond™ LR	BPA	1,86	1,88	0,35	1,36	1,44	0,23	1,38	1,41	0,24	23,07	23,45	2,47
	TEGDMA	16,99	14,40	8,50	11,88	11,49	5,51	8,32	8,06	3,43	688,61	639,85	185,40
Transbond™ Plus	BPA	1,07	0,94	0,47	0,79	0,83	0,26	0,81	0,80	0,23	16,04	15,69	1,84
Transbond™ XT	BPA	5,30	5,46	1,49	4,22	4,12	0,65	4,14	4,53	0,97	64,83	66,56	5,58
Triad@Gel	UDMA	129,47	129,65	36,85	110,00	114,48	22,34	99,54	101,96	20,35	1.682,00	1.764,07	262,07

Unterteilt nach Materialien unter Angabe von Mittelwert, Median und Standardabweichung (\pm SD) der einzelnen Elutionsperioden (t1 – t11) sowie kumulativ über 35 Tage [d] in ppm ($\mu\text{g}/1\text{g}$ Material).

(modifiziert nach Kux et al., 2022 (34))

3.1.1 BrackFix®

BrackFix® zeigte eine Freisetzung von BPA und Bis-GMA.

BPA eluierte über den Zeitraum von 5 Wochen kumulativ mit einem Mittelwert von $19,44 \pm 1,91$ ppm (t1 – t11). Das Maximum wurde bei t4 ermittelt ($2,74 \pm 0,67$ ppm), das Minimum bei t2 ($1,38 \pm 0,27$ ppm) (Abb. 4).

Kleinere Peaks, die den gesetzten AUC-Mindestwert nicht überschritten haben, konnten anhand ihrer Retentionszeit Bis-GMA zugeordnet werden, eine weitere quantitative Analyse erfolgte nicht.

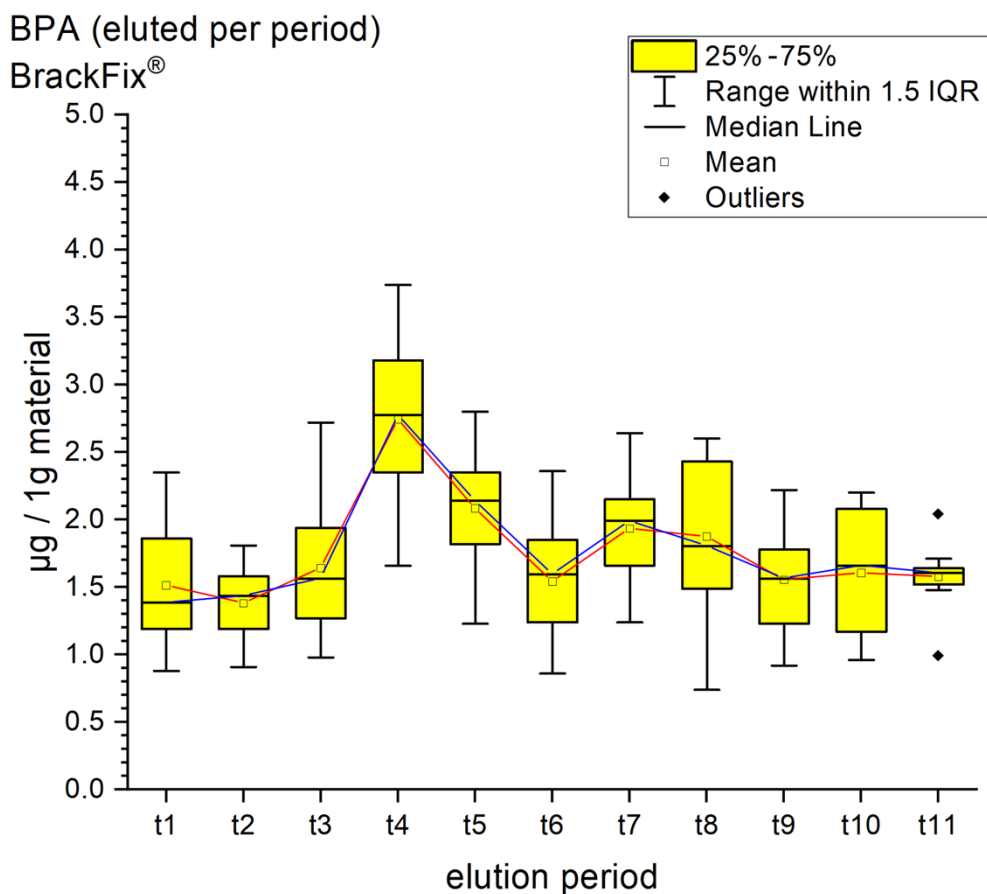


Abb. 4: Freisetzung von BPA aus BrackFix®

Boxplotdiagramm zur Freisetzung von BPA aus BrackFix® nach jeder Elutionsperiode. Die x-Achse stellt die einzelnen Elutionsperioden dar (t1 – t11), die y-Achse die Menge an eluiertem BPA in µg aus 1 g BrackFix® für die einzelnen Elutionsperioden. Die rote Kurve spiegelt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte (Mean) über den Untersuchungszeitraum wider, die blaue Kurve die der Mediane (Median).

IQR = Interquartilbereich; Outliers = Ausreißer.

(eigene Darstellung: B. J. Kux)

3.1.2 Transbond™ LR

Transbond™ LR zeigte eine Freisetzung von BPA und TEGDMA.

Der kumulierte Mittelwert an freigesetzten BPA liegt bei $23,07 \pm 2,47$ ppm nach t11. Das Maximum liegt bei t1 mit $3,03 \pm 0,46$ ppm, das Minimum bei t10 mit $1,36 \pm 0,23$ ppm (Abb. 5).

TEGDMA wurde mit $688,91 \pm 185,40$ ppm über 5 Wochen eluiert. Nach t1 ($208,87 \pm 87,75$ ppm) wurde das Elutionsmaximum ermittelt, bei t11 ($8,32 \pm 3,43$ ppm) das Minimum (Abb. 6).

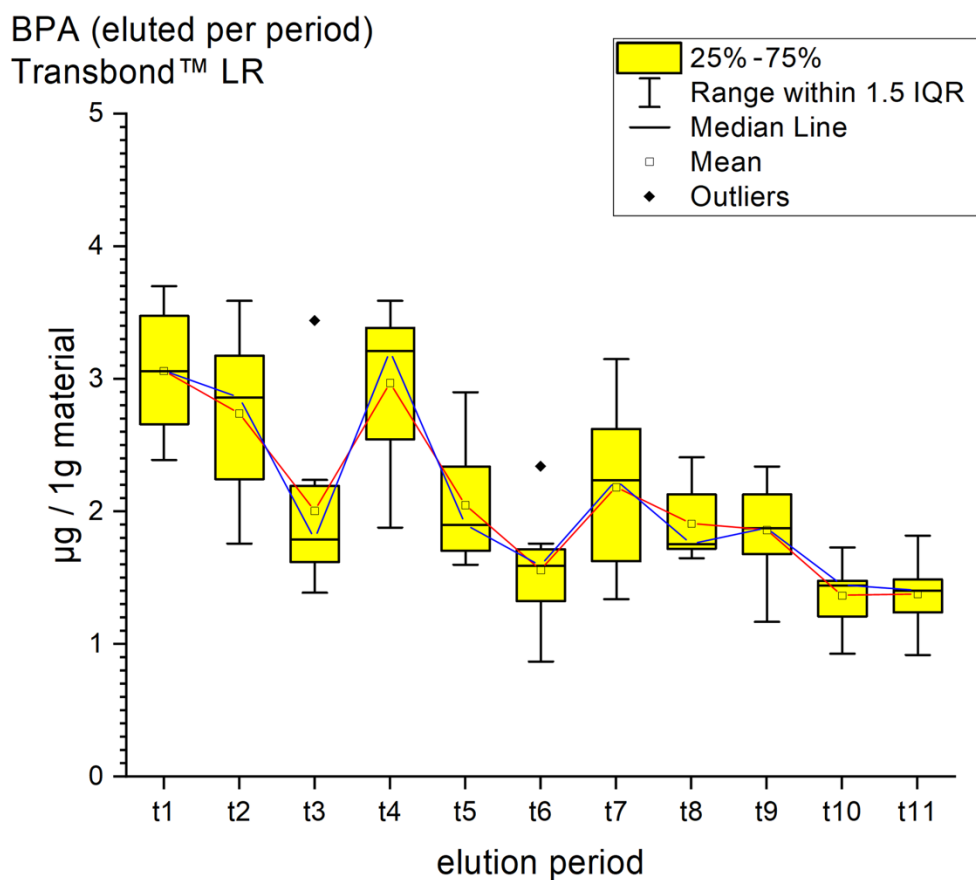


Abb. 5: Freisetzung von BPA aus Transbond™ LR

Boxplotdiagramm zur Freisetzung von BPA aus Transbond™ LR nach jeder Elutionsperiode. Die x-Achse stellt die einzelnen Elutionsperioden dar (t1 – t11), die y-Achse die Menge an eluiertem BPA in µg aus 1 g Transbond™ LR für die einzelnen Elutionsperioden. Die rote Kurve spiegelt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte (Mean) über den Untersuchungszeitraum wider, die blaue Kurve die der Mediane (Median). IQR = Interquartilbereich; Outliers = Ausreißer. (eigene Darstellung: B. J. Kux)

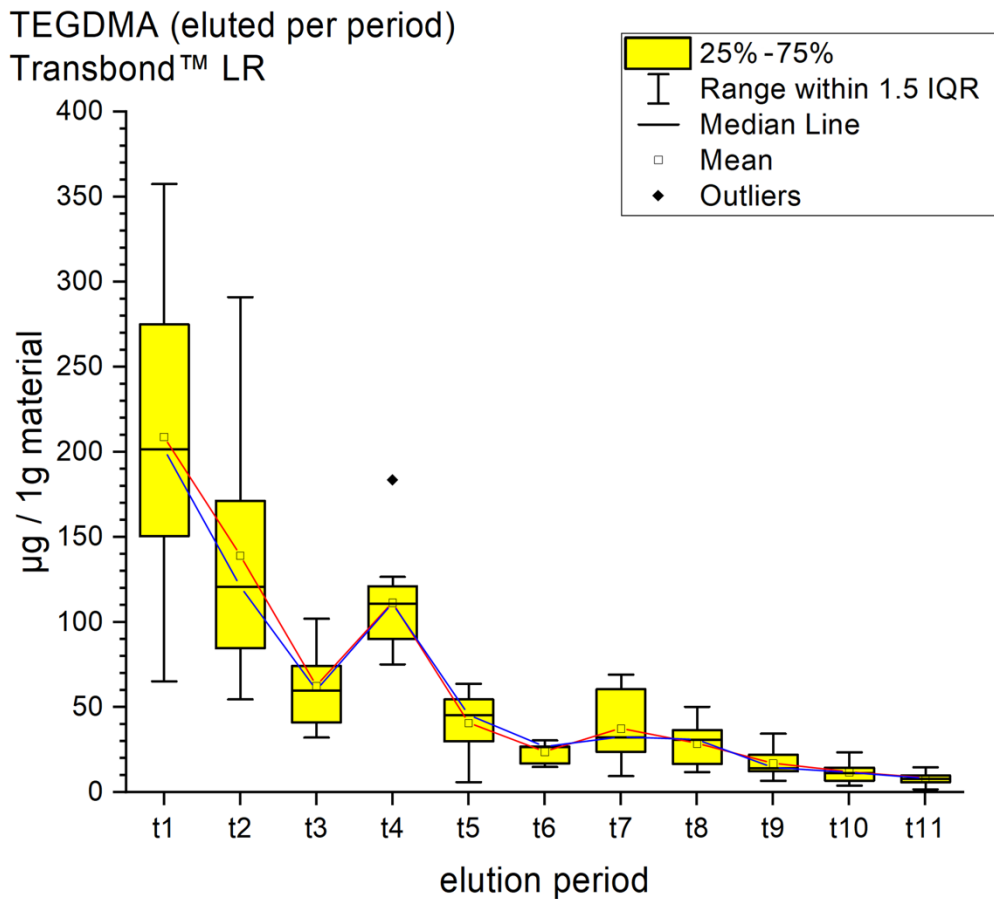


Abb. 6: Freisetzung von TEGDMA aus Transbond™ LR

Boxplotdiagramm zur Freisetzung von TEGDMA aus Transbond™ LR nach jeder Elutionsperiode. Die x-Achse stellt die einzelnen Elutionsperioden dar (t1 – t11), die y-Achse die Menge an eluiertem TEGDMA in μg aus 1 g Transbond™ LR für die einzelne Elutionsperioden. Die rote Kurve spiegelt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte (Mean) über den Untersuchungszeitraum wider, die blaue Kurve die der Mediane (Median). IQR = Interquartilbereich; Outliers = Ausreißer.

(eigene Darstellung: B. J. Kux)

3.1.3 Transbond™ Plus

Neben zwei nicht identifizierten Substanzen eluierte BPA aus Transbond™ Plus. Über den gesamten Zeitraum (t1 – t11) wurden $16,04 \pm 1,84$ ppm eluiert. Das Maximum der BPA-Freisetzung wurde nach 30 Minuten (t1) festgestellt ($3,29 \pm 0,67$ ppm), das Minimum nach 5 Wochen (t10: $0,79 \pm 0,23$ ppm) (Abb. 7).

Die beiden nicht weiter analysierten Substanzen weisen ähnliche Retentionszeiten wie Campherchinon (CQ) und Hydrochinon (HQ) in den Kalibrierungsstandards auf.

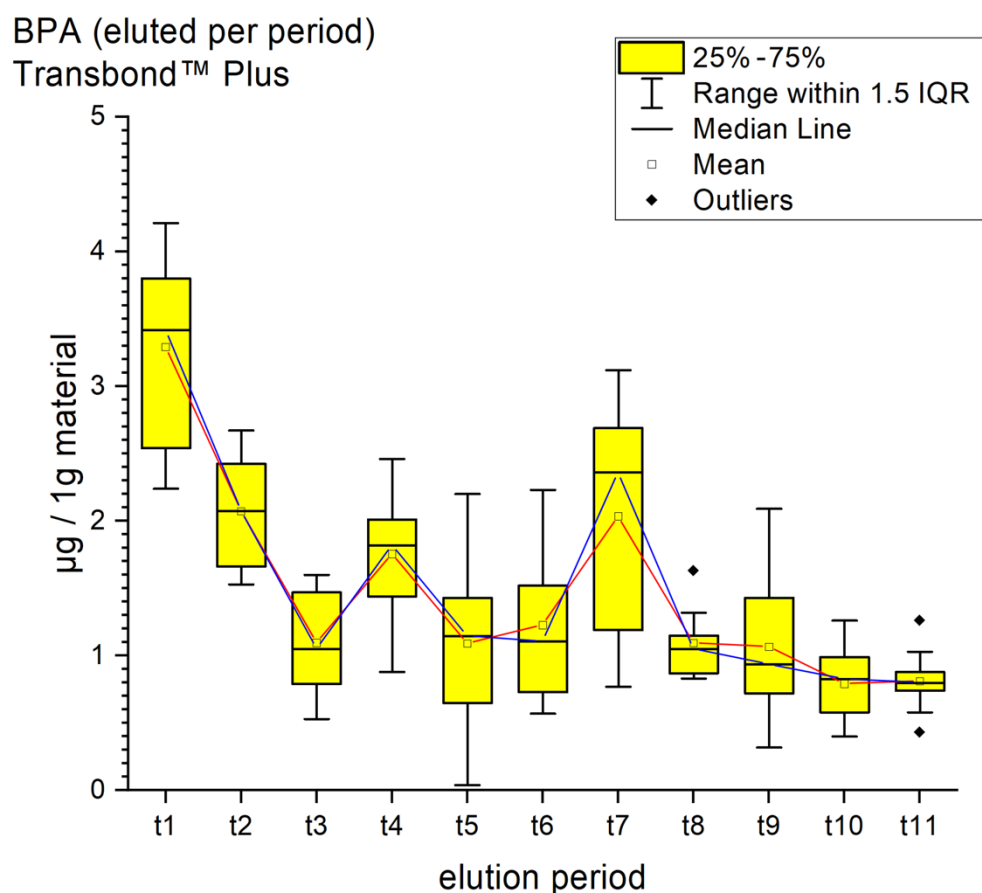


Abb. 7: Freisetzung von BPA aus Transbond™ Plus

Boxplotdiagramm zur Freisetzung von BPA aus Transbond™ Plus nach jeder Elutionsperiode. Die x-Achse stellt die einzelnen Elutionsperioden dar (t1 – t11), die y-Achse die Menge an eluiertem BPA in µg aus 1 g Transbond™ Plus für die einzelnen Elutionsperioden. Die rote Kurve spiegelt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte (Mean) über den Untersuchungszeitraum wider, die blaue Kurve die der Mediane (Median). IQR = Interquartilbereich; Outliers = Ausreißer. (eigene Darstellung: B. J. Kux)

3.1.4 Transbond™ XT

Transbond™ XT setzt ebenfalls BPA frei. Über den gesamten Zeitraum (t1 – t11) wurde ein Mittelwert von $64,83 \pm 5,58$ ppm ermittelt. Das ist der höchste Wert der BPA-Freisetzung im Vergleich zu den anderen Materialien. Der Maximalwert für Transbond™ XT liegen bei t4 ($9,37 \pm 1,31$ ppm), der Minimalwert bei t1 ($4,14 \pm 0,97$ ppm) (Abb. 8). Weitere Peaks mit der Retentionszeit von Bis-GMA wurden ebenfalls registriert, jedoch unter dem AUC-Schwellenwert.

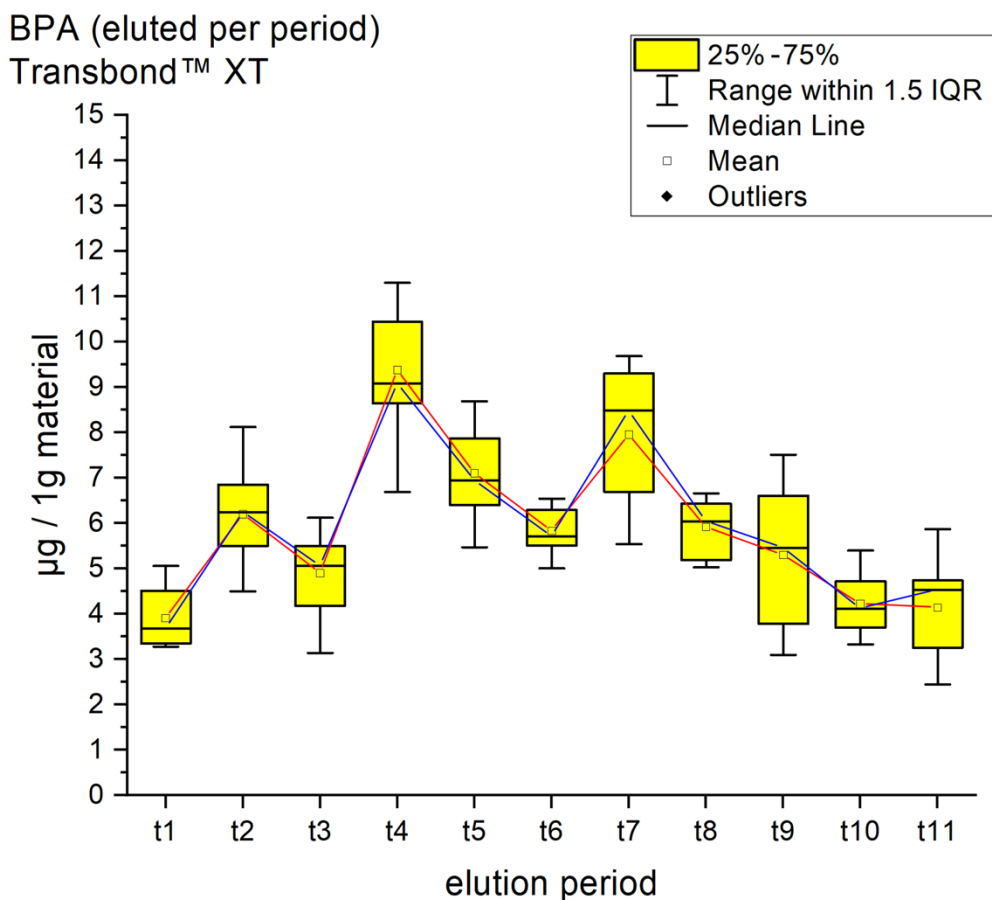


Abb. 8: Freisetzung von BPA aus Transbond™ XT

Boxplotdiagramm zur Freisetzung von BPA aus Transbond™ XT nach jeder Elutionsperiode. Die x-Achse stellt die einzelnen Elutionsperioden dar (t1 – t11), die y-Achse die Menge an eluiertem BPA in µg aus 1 g Transbond™ XT für die einzelnen Elutionsperioden. Die rote Kurve spiegelt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte (Mean) über den Untersuchungszeitraum wider, die blaue Kurve die der Mediane (Median). IQR = Interquartilbereich; Outliers = Ausreißer. (eigene Darstellung: B. J. Kux)

3.1.5 Triad® Gel

Triad® Gel eluierte als einziges Material UDMA. Über den gesamten Untersuchungszeitraum (t1 – t11) wurde ein kumulativer Mittelwert von $1682,00 \pm 262,07$ ppm ermittelt. Es ist der höchste kumulative Mittelwert. Die höchste Menge an UDMA pro Elutionsperiode wurde bei t4 mit $141,76 \pm 41,57$ ppm registriert, die geringste bei t11 mit $99,54 \pm 20,53$ ppm (Abb. 9).

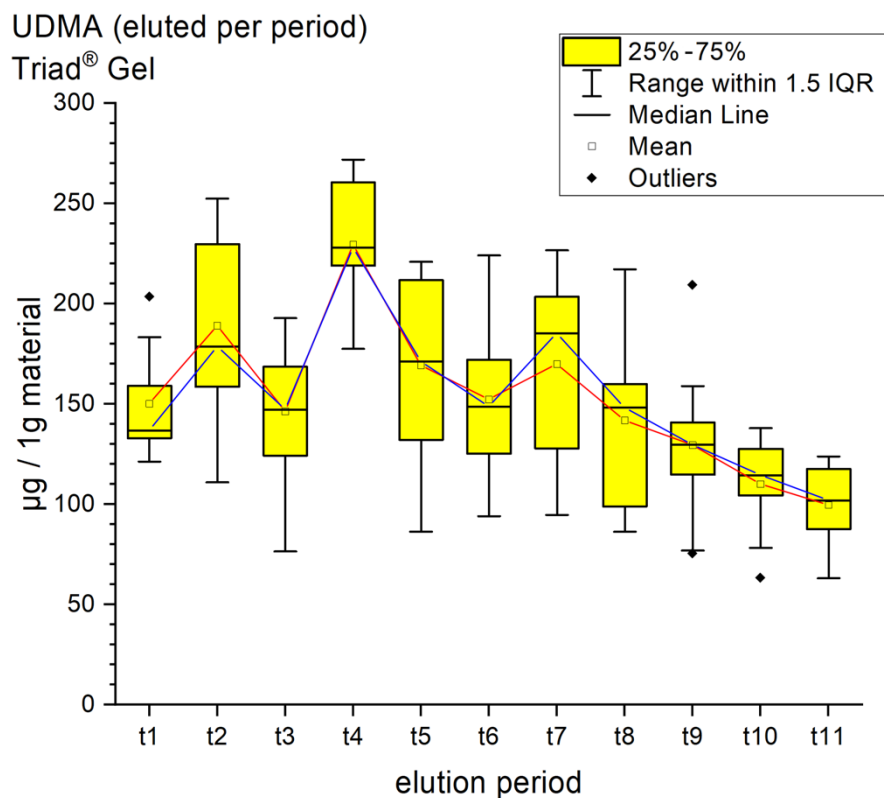


Abb. 9: Freisetzung von UDMA aus Triad® Gel

Boxplotdiagramm zur Freisetzung von UDMA aus Triad® Gel nach jeder Elutionsperiode. Die x-Achse stellt die einzelnen Elutionsperioden dar (t1 – t11), die y-Achse die Menge an eluiertem BPA in μg aus 1 g Triad® Gel für die einzelnen Elutionsperioden. Die rote Kurve spiegelt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte (Mean) über den Untersuchungszeitraum wider, die blaue Kurve die der Mediane (Median). IQR = Interquartilbereich; Outliers = Ausreißer. (eigene Darstellung: B. J. Kux)

3.2 Substanzbezogene Ergebnisse

Die Freisetzung von BPA, TEGDMA und UDMA konnte aus den fünf Materialien näher untersucht werden. Die initiale Periode (t1: 0 - 30 Min) zeigte maximale Elutionsraten im Verhältnis von Menge zu Zeit bei allen Substanzen und Materialien.

3.2.1 Bisphenol-A

BPA wurde von BrackFix[®], Transbond[™] LR, - Plus und - XT freigesetzt. Die zweifache Varianzanalyse (2-way-ANOVA) belegt ein unterschiedliches Elutionsverhalten der Materialien, im Bezug auf die freigesetzte Menge an BPA [ppm] über den Elutionszeitraum, der interaktive *p*-Wert liegt bei <0,001.

Den höchsten kumulativen Mittelwert nach 35 Tagen (t1 – t11) weist Transbond[™] XT mit 64,83 ± 5,58 ppm auf. Es folgen mit deutlich geringeren Werten Transbond[™] LR (23,07 ± 2,47 ppm) und BrackFix[®] (19,44 ± 1,91 ppm). Das kumulative Minimum hat Transbond[™] Plus mit 16,04 ± 1,84 ppm.

Abbildung 10 zeigt, dass Transbond[™] XT im Kontrast zu den anderen drei Materialien, die nach 24 Stunden Elutionszeit (t1 – t4) weniger BPA pro Zeitintervall freisetzen, weiterhin eine höhere Elutionsrate bis t11 hatte.

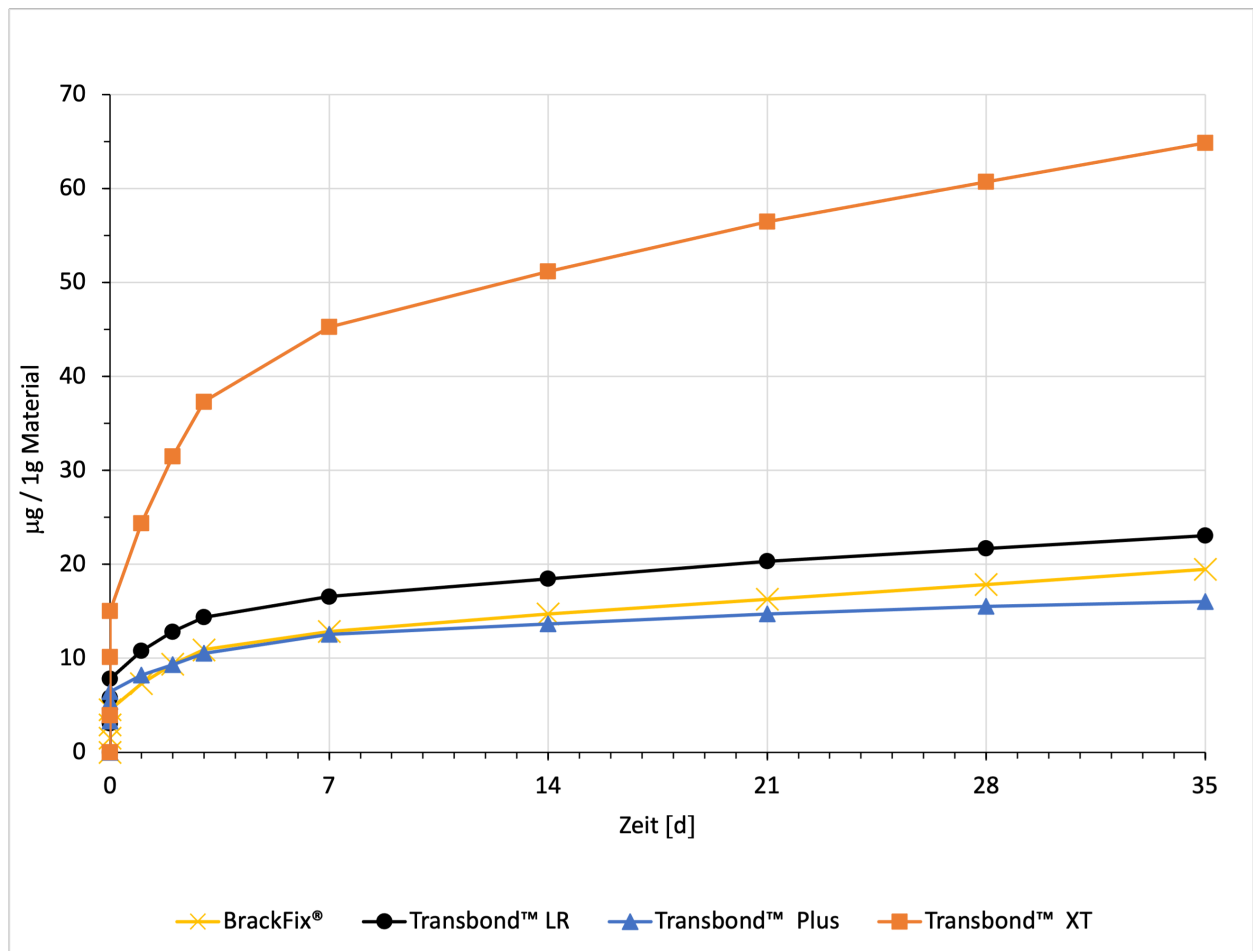


Abb. 10: Kumulierte Freisetzung von BPA aus BrackFix®, Transbond™ LR, - Plus und – XT

Gegenüberstellung der kumulierten Mengen von eluiertem BPA (Bisphenol-A [μg]) aus 1 g Transbond™ Plus, Transbond™ XT, Transbond™ LR, BrackFix® im zeitlichen Verlauf über 35 Tage. Die x-Achse beschreibt die Zeit in Tagen [d], die y-Achse die Menge an freigesetztem BPA aus 1 Gramm Material ($\mu\text{g}/1\text{g}$ Material).
(modifiziert nach Kux et al., 2022 (34))

3.2.2 Triethylenglycoldimethacrylat

Eine Freisetzung von TEGDMA wurde nur bei Transbond™ LR nachgewiesen. Mit $688,91 \pm 185,40$ ppm ist es die zweithöchste freigesetzte Menge eines Monomers aus 1 g Material in dieser Studie. Besonders in den ersten 24 Stunden ($t_1 - t_4$) wurde eine hohe Freisetzungsrates beobachtet, welche dann kontinuierlich abnimmt ($t_5 - t_{11}$) (Abb. 11).

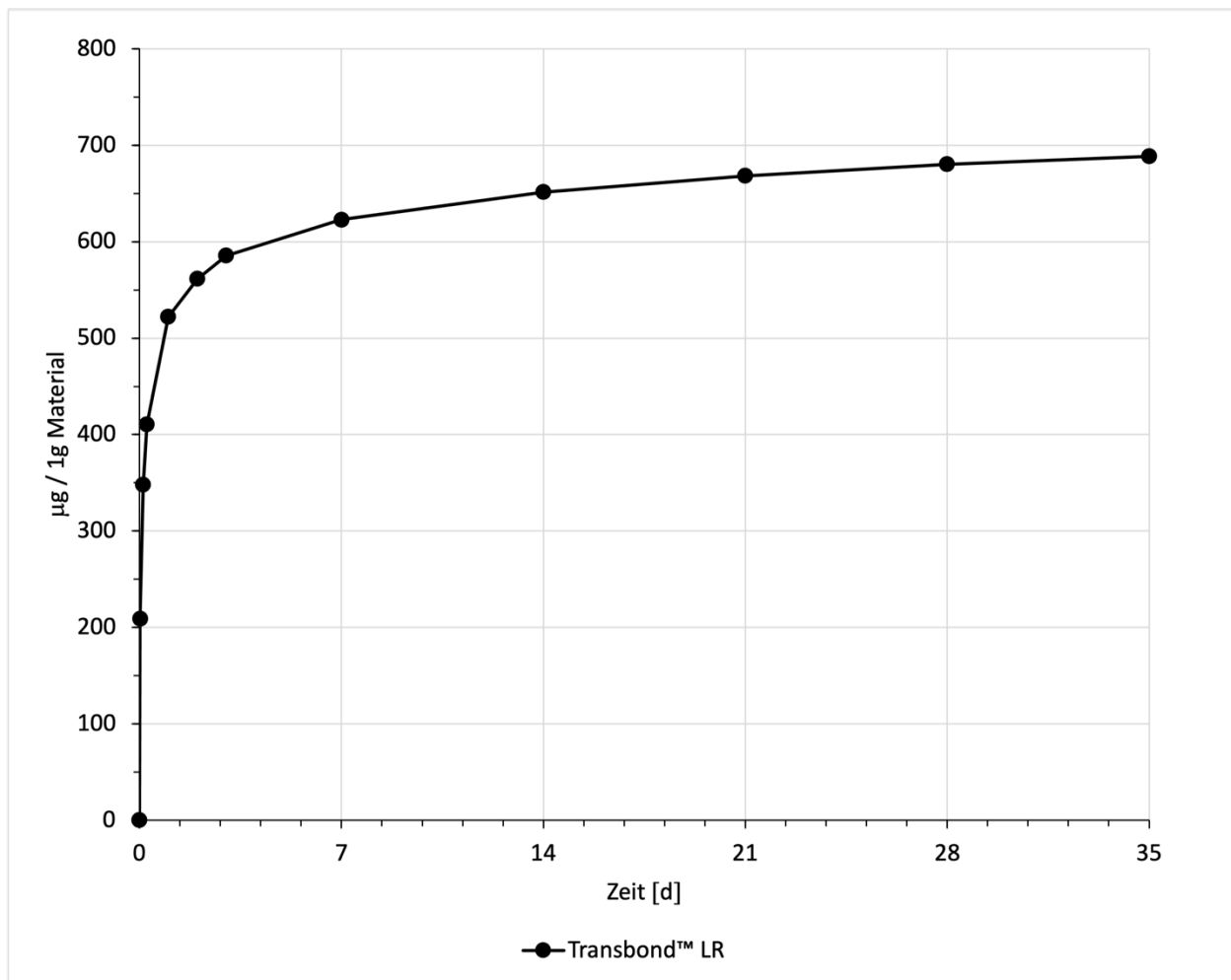


Abb. 11: Kumulierte Freisetzung von TEGDMA aus Transbond™ LR

Kumulierte Mengen von eluiertem TEGDMA (Triethylenglycoldimethacrylat [μg]) aus 1 g Transbond™ LR im zeitlichen Verlauf über 35 Tage. Die x-Achse beschreibt die Zeit in Tagen [d], die y-Achse die Menge an freigesetztem TEGDMA aus 1 Gramm Material ($\mu\text{g}/1\text{g}$ Material). (modifiziert nach Kux et al., 2022 (34))

3.2.3 Urethandimethacrylat

UDMA wurde aus Triad® Gel freigesetzt. Mit $1682,00 \pm 262,07$ ppm ist es die größte Menge eines freigesetzten Monomers pro 1 g Material. Abbildung 12 zeigt, dass innerhalb der ersten (t1 – t7) von insgesamt fünf Wochen bereits ein Großteil des UDMA vom kumulativen Wert (t1 - t11) freigesetzt wurde.

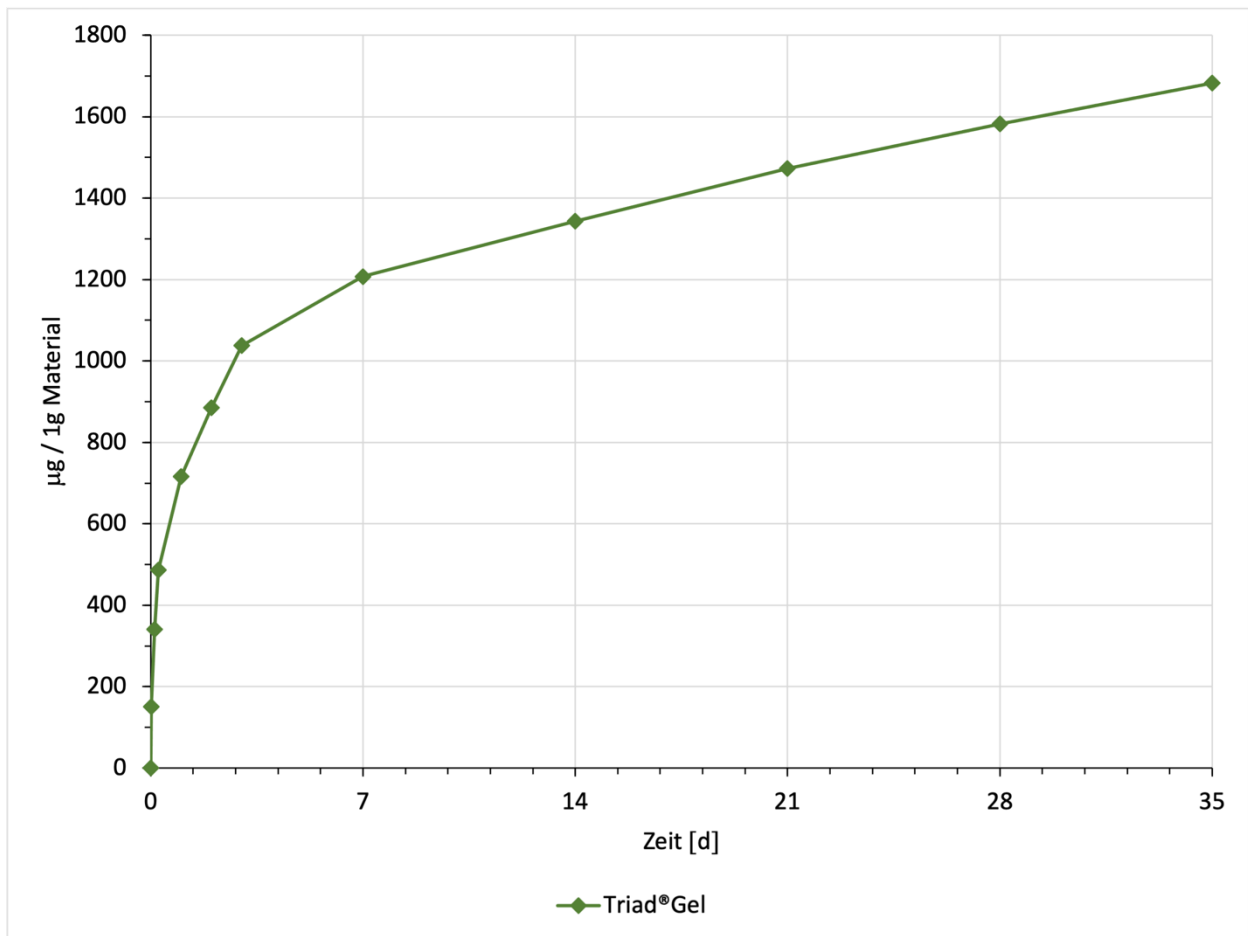


Abb. 12: Kumulierte Freisetzung von UDMA aus Triad® Gel

Kumulierte Mengen von eluiertem UDMA (Urethandimethacrylat [μg]) aus 1 g Triad® Gel im zeitlichen Verlauf über 35 Tage. Die x-Achse beschreibt die Zeit in Tagen [d], die y-Achse die Menge an freigesetztem UDMA aus 1 Gramm Material ($\mu\text{g}/1\text{g}$ Material). (modifiziert nach Kux et al., 2022 (34))

4. Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Diese In-vitro-Studie hat mittels einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie einen Nachweis der Freisetzung von gesundheitsschädlichen Monomeren aus kieferorthopädischen Materialien erbracht.

Durch eine Elutionsphase von bis zu 5 Wochen in Kunstspeichel bei Körpertemperatur (37 °C) wurde eine Annäherung an In-vivo-Verhältnisse angestrebt. Aus fünf kieferorthopädischen Adhäsiven verschiedener Indikationen, die primär Anwendung in der Behandlung mit festsitzenden Apparaturen finden, konnten drei Monomere qualitativ und quantitativ bestimmt werden: BPA, TEGDMA und UDMA. Eine Freisetzung von BPA wurde aus BrackFix[®], Transbond[™] LR, - Plus und - XT nachgewiesen. TEGDMA wurde aus Transbond[™] LR, UDMA aus Triad[®] Gel freigesetzt. Ein Maximum der Freisetzung in Relation von Menge zu Zeit konnte für alle Materialien und analysierten Monomere während der ersten Elutionsperiode ermittelt werden.

Neben den drei qualitativ und quantitativ bestimmten Monomeren gaben die Chromatogramme Hinweise auf weitere freigesetzte Substanzen, die jedoch gesetzte Grenzwerte zur Analyse nicht überschritten haben.

4.2 Interpretation der Ergebnisse

Der Vergleich der Sicherheitsdatenblätter mit den analysierten Monomeren zeigt, dass neben den gelisteten auch weitere Substanzen eluiert worden sind. Gleiches beobachteten andere Studien (35).

Herstellerseitig wird für Transbond[™] Plus BPA nicht als Bestandteil gelistet. Ein möglicher Grund ist, dass der Anteil im Produkt sehr gering ist und deswegen keine Erwähnung im Sicherheitsdatenblatt findet. So zeigt Transbond[™] Plus im Vergleich zu den anderen Materialien mit BPA-Nachweis den geringsten kumulativen Wert nach 5 Wochen (t1 – t11). Ein weiterer Erklärungsansatz ist die Verwendung von BPA als Zusatz in der Herstellung von weiteren Substanzen wie zum Beispiel Bis-GMA oder Bis-EMA (ethoxylated-Bisphenol-A-glycol-dimethacrylate), die auch in BrackFix[®] zu finden sind. BPA kann potenziell als Degradationsprodukt dieser größeren Substanzen über einen gewissen Zeitraum freigesetzt werden (36, 37). Die Freisetzung von BPA aus BrackFix[®],

Transbond™ LR und - XT bestätigt diese Aussage. Alle Materialien listen in ihrer Zusammensetzung Substanzen, die BPA als Bestandteil aufweisen.

Eine Freisetzung weiterer nicht näher identifizierter Substanzen konnte anhand vereinzelter Peaks, die unter der hier von uns in Class VP 4.7 gesetzten Nachweisschwelle lagen, beobachtet werden. Ein Vergleich mit den Retentionszeiten der unbekannt Substanzen und den hier verwendeten Standards lässt dennoch Rückschlüsse auf eine mögliche Zuordnung zu. Transbond™ Plus zeigt zwei Peaks, die in ihrer Charakteristik vergleichbare, aber nicht exakt übereinstimmende Retentionszeiten wie Hydrochinon (HQ) und Campherchinon (CQ) haben. Die ermittelten Spektren zeigen ebenfalls Abweichungen vom Standard. Campherchinon und Hydrochinon sowie die anderen im Standard verwendeten Substanzen sind typische Bestandteile in der Zusammensetzung von dentalen und kieferorthopädischen Kompositen (38). Diese werden als Photoinitiatoren, -inhibitoren und Stabilisatoren verwendet oder können als Derivate von Grundmaterialien auftreten (39). Weitere Studien belegten eine Freisetzung von Campherchinon mittels Gaschromatographie / Massenspektrometrie (GC/MS) aus diversen Materialien, auch wenn CQ nicht im Sicherheitsdatenblatt erwähnt war (35, 39, 40). Im Sicherheitsdatenblatt von Transbond™ Plus werden drei Substanzen aufgelistet, die nicht in den Standards verwendet wurden. Es ist also nicht auszuschließen, dass auch diese die unbekannt Peaks verursacht haben. Eine weitere Analyse im Sinne eines Vergleichs der Peak-Charakteristika nach Untersuchung der einzelnen Reinsubstanzen mittels der HPLC, kann Aufschluss bieten.

Ein Vergleich der drei qualitativ und quantitativ näher untersuchten Substanzen miteinander zeigt, dass UDMA (freigesetzt aus Triad® Gel) über den gesamten Untersuchungszeitraum von 5 Wochen den höchsten kumulativen Mittelwert aufweist ($1682,00 \pm 262,07$ ppm). TEGDMA folgt an zweiter Stelle mit $688,91 \pm 185,40$ ppm, freigesetzt aus Transbond™ LR. Eine allgemeine Bewertung ist aufgrund fehlender offizieller Grenzwerte für UDMA und TEGDMA zur Einnahme und Verarbeitung, aber auch wegen der unterschiedlichen Charakteristika der Substanzen zunächst nicht sinnvoll.

BPA wurde aus vier Materialien mit kumulativen Mittelwerten von 16,04 – 64,83 ppm freigesetzt. Statistisch signifikant zeigen sich entsprechend deutliche Unterschiede zwischen den Materialien in der freigesetzten Menge von BPA. Während Transbond™

Plus, BrackFix[®] und Transbond[™] LR eher geringe kumulative Mittelwerte zwischen 16,04 – 19,44 ppm aufweisen, zeigt Transbond[™] XT einen ungefähr vierfachen Wert mit 64,83 ppm nach 35 Tagen ($t_1 - t_{11}$). Das Elutionsverhalten stellt sich ebenfalls unterschiedlich dar. Transbond[™] XT weist im Gegensatz zu den anderen drei Materialien auch nach den ersten 24 Stunden ($t_1 - t_4$) eine hohe Freisetzung von BPA auf. Gründe können zum einen höhere Anteile an BPA in der Gesamtzusammensetzung der einzelnen Materialien sein, was wegen fehlender genauer Angaben in den lediglich benannten Richtwerten in den Sicherheitsdatenblättern nicht abschließend zu bestätigen ist. Weiterhin sind auch hier unterschiedliche Degradationsprozesse mit verzögerter Freisetzung denkbar, wie es bei BrackFix[®] sowie deutlicher bei Transbond[™] XT in Abbildung 10 erkennbar ist. Eine weitere Option ist die Überlagerung von mehreren Substanzen mit ähnlichen Retentionszeiten und Spektren im Chromatogramm.

Für alle fünf untersuchten Materialien und drei qualitativ und quantitativ analysierten Monomere konnte eine maximale Freisetzung im Sinne von Menge zu Zeit [ppm / h], während der ersten Elutionsperiode ($t_1: 0 - 30$ [Min]) festgestellt werden. Auch nimmt die Freisetzung bei allen Materialien im Untersuchungszeitraum ab. Triad[®] Gel zeigt im Vergleich zu den anderen Materialien auch nach t_1 eine relativ hohe Freisetzung von UDMA, ähnlich wie BPA aus Transbond[™] XT (Abbildungen 10 – 12). Diese Beobachtung kann zum einen mit unterschiedlichen Konversionsraten erklärt werden, die aus unterschiedlich hohen Restmonomeranteilen, besonders an der Oberfläche der Probekörper, resultieren (41-43). Das führt zu hohen Elutionsraten zu Untersuchungsbeginn. Zum anderen besteht ein Zusammenhang zwischen der Substanzgröße sowie den bereits erwähnten unterschiedlichen Degradationsprozessen verschiedener Substanzen und der stetigen Abgabe auch nach längerer Elutionsphase (44). Monomere mit geringerem molekularem Gewicht wie BPA und TEGDMA neigen eher zur Auswaschung aus dentalen Adhäsiven als Monomere mit hohem molekularem Gewicht wie Bis-GMA (45).

4.3 Einbettung der Ergebnisse in den bisherigen Forschungsstand

Eine Vielzahl an Studien, in vivo und in vitro, hat die Freisetzung von Monomeren aus dentalen Adhäsiven untersucht, auch im Hinblick auf kieferorthopädische Materialien. Ein Vergleich von Ergebnissen und deren wissenschaftliche Einordnung ist jedoch erst nach

genauer Betrachtung von Fragestellungen, Materialien und Methoden der Studien sinnvoll.

Kloukos et al. (2013) zeigen deutlich in einem Review, inwiefern sich die verschiedenen Studiendesigns mit dem gleichen Themenschwerpunkt unterscheiden (11). Neben der Analyse mittels einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie werden häufig andere Verfahren verwendet. Die Kopplung einer Flüssigkeitschromatographie mit einer Massenspektrometrie (LC/MS) oder eine Kopplung von Gaschromatographie (GC) und einer MS (GC/MS) sind Alternativen. Auch können sich die genannten Methoden selbst, hinsichtlich verschiedener Versuchsaufbauten oder Parameter beim Analyseprozess unterscheiden.

Die Auswahl der untersuchten Materialien hat ebenso Einfluss auf die Freisetzung von Monomeren wie die Herstellung und Form der Probekörper. Neben der Menge ist die exponierte Oberfläche ausschlagsgebender als das Volumen der Probekörper (46). Der POM-Ring reduziert in diesem Versuchsaufbau die freie Oberfläche des Probekörper um ungefähr 30 % (Tab. 1). In vivo werden oft weitaus größere Flächen zum Beispiel durch Brackets oder Bänder bedeckt, gleichzeitig ist eine Aufnahme von Monomeren in den Organismus auch über Zahnoberflächen näher zu untersuchen.

Zusammenhänge zwischen der Monomerfreisetzung und der Polymerisationsphase wurden in diversen Studien untersucht. Zur Reduktion der Monomerfreisetzung ist eine LED-Polymerisationslampe (light-emitting diode) gegenüber der Halogenvariante zu bevorzugen. Dabei sollte der Abstand zwischen Probekörper und Lampe möglichst gering gehalten werden und die Dauer der Polymerisation entsprechend der Herstellerangaben der Materialien zur Verarbeitung oder länger angesetzt werden (42). Diese Vorgaben wurden in dieser Studie berücksichtigt.

Ein weiterer Unterschied zwischen den einzelnen Studien zeigt sich in der Wahl des Elutionsmediums (47). Kunstspeichel ist als Elutionsmedium bei In-vitro-Versuchen eine komplikationsarme Annäherung an In-vivo Verhältnisse und somit eine Alternative zu Patientenspeichelproben. Patientenspeichel kann durch enzymatische oder bakterielle Bestandteile zur ungewünschten Verunreinigungen im System der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie führen und somit zu Abweichungen in den Chromatogrammen. Weitere Alternativen zum Kunstspeichel sind Wasser, Ethanol oder Kombinationen. Soll ein künstlicher Alterungsprozess bei Polymeren herbeigeführt werden, wird häufig Ethanol gewählt (10). Zu prüfen ist, ob dieser Alterungs- und Freisetzungsprozess vergleichbar mit den Bedingungen in vivo oder in anderen

Elutionsmedien ist. Auch ist es fraglich, welchen Einfluss verschiedene Elutionsmedien sowie die Zusammensetzung von Kunstspeichel auf die Freisetzung von Monomeren haben. Sowohl eine erhöhte Temperatur des Elutionsmediums als auch ein alkalischer pH-Wert führen zu erhöhter BPA-Freisetzung, ein geringer pH-Wert minimiert diese hingegen (44, 48, 49).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass die Freisetzung von Monomeren nicht linear erfolgt. Entsprechend wichtig ist bei der Bewertung ein Abgleich von Pipettierzeitpunkten, der Elutionsdauer sowie dem Verhältnis von Elutionsmedium zu Materialmenge (47). Das Pipettieren sollte allgemein wie in dieser Studie nach einem strikten Protokoll und entsprechend der festgelegten Zeitpunkte und in konstanter Reihenfolge erfolgen, um Abweichungen in den Ergebnissen durch unterschiedlich lange Elutionsperioden zu vermeiden.

Deutlich wird, dass einheitliche Studienprotokolle essentiell sind, um Ergebnisse verlässlich zuordnen und vergleichen zu können (11). Gleichzeitig führen unterschiedliche Ansätze auch zu neuen Erkenntnissen.

Prüft man die Hauptaussagen dieser Studie im Vergleich zu anderen Studien, steht vor allem der Nachweis von einzelnen Monomeren aus denselben analysierten Materialien im Fokus.

Einige Studien belegten die Freisetzung von BPA aus Transbond™ XT mittels einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (42, 50). Malkiewicz et al. publizierten 2015, dass keine BPA-Freisetzung aus Transbond™ XT beobachtet werden konnte (37). Dabei wurde als Elutionsmedium HPLC grade water bei anderen Mengenverhältnisse zum Probekörper verwendet. Auch sind die Proben nach Entnahme bei -18 °C tiefgefroren worden. Abweichende Ergebnisse können durch unterschiedliche Versuchsaufbauten oder abweichende Kalibrierungen und Parameterwahl bei der HPLC begründet werden. Der Vergleich von einzelnen Konzentrationen ist aufgrund der bereits genannten Faktoren nicht zielführend.

Weitere Studien, die die Proben mittels einer Gaschromatographie gekoppelt mit einer Massenspektrometrie (GC/MS) analysiert haben, bestätigen ebenfalls die Freisetzung von BPA aus Transbond™ XT (36, 51).

Pelourde et al. haben 2018 mittels GC/MS außerdem die Freisetzung von TEGDMA aus Transbond™ XT und – LR nachgewiesen sowie weitere potenziell gesundheits-schädigende Substanzen, jedoch keine Freisetzung von BPA über einer gesetzten

Nachweisschwelle (40). Dass kein BPA in entsprechenden Konzentrationen nachzuweisen war, kann an der Probenaufbereitung und -analyse mittels GC/MS liegen, aber auch an unterschiedlichen Versuchsaufbauten. Die hier vorliegende Studie ist bis dato die erste, die eine TEGDMA-Freisetzung aus Transbond™ LR mittels einer HPLC nachweisen konnte (34).

Substanzunabhängig ist die Studienlage eindeutig. Wie auch hier festgestellt, werden in der initialen Elutionsphase die größten Monomermengen freigesetzt. Die Freisetzung der untersuchten Substanzen nimmt danach mit der Zeit stark ab oder stoppt. Diese Beobachtungen haben Relevanz bei der klinischen Handhabung der Materialien (11, 43). Eine Verlängerung des Untersuchungszeitraums von 35 Tagen ist somit im Bezug auf die hier qualitativ und quantitativ untersuchten Substanzen nicht weiter indiziert.

4.4 Bewertung der Studie

Der gewählte Versuchsaufbau, die angewandte Methodik und das Analyseverfahren konnten die Monomerfreisetzung aus kieferorthopädischen Werkstoffen belegen.

Angelehnt an die Empfehlungen zur Standardisierung von Kloukos et al. (11) sowie unter Berücksichtigung der DIN EN ISO 10993-13 konnten im Vergleich zur aktuellen Studienlage valide Ergebnisse erzielt werden.

Auf Basis der Messungen mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und der resultierenden Chromatogramme können qualitative und quantitative Rückschlüsse hinsichtlich der freigesetzten Monomere gezogen und unterschiedliche Elutionsverhalten charakterisiert werden. Gleichzeitig wurden weitere Substanzen unter einer gesetzten Nachweisschwelle registriert. Die Nachweisschwelle bei einem AUC-Wert von 100.000 in Class VP 4.7 wurde bewusst gewählt, um Peaks, die durch Substanzen ausgelöst werden, deutlich von Abweichungen der Basislinie in den Chromatogrammen zu unterscheiden. Auf dieser Grundlage ist eine valide Quantifizierung durchführbar (32). Gering eluierte Substanzen konnten zwar näherungsweise identifiziert werden, jedoch ist eine abschließende Identifikation und Quantifizierung wünschenswert. Mögliche Ansätze zur Identifikation dieser und weiterer Substanzen sind die Erweiterung der Standards um weitere Reinsubstanzen, die präanalytische Aufreinigung der Proben sowie die Ergänzung weiterer Analyseverfahren wie die Massenspektrometrie oder die Analyse

mittels einer Gaschromatographie, gekoppelt mit einer Massenspektrometrie (GC/MS) (44, 52). Durch die Probenaufbereitung bei einer GC/MS bei hohen Temperaturen ist eine Degradation einzelner Substanzen möglich, welche dann potenziell nicht mehr nachzuweisen sind (53). Abschließend ist die Umkehrphasenchromatographie der HPLC als geeignetes Analyseverfahren zur Monomerfreisetzung zu bewerten (11, 50). Die HPLC ist im Forschungsbereich weit verbreitet aber nicht alternativlos (11).

Die Auswahl der hier genutzten Laufmittel, Säulen und Parameter basierte auf einer Vielzahl von Vorversuchen. Diese zeigten, dass Acrylate primär im unteren Bereich des Spektrums (200 - 240 nm) absorbieren und die Absorption mit zunehmender Wellenlänge stark abnimmt. Um die Nachweisgrenze möglichst gering zu halten und somit möglichst niedrige Konzentrationen messen zu können, sollte das Absorptionsspektrum des Laufmittels ebenfalls möglichst dicht am unteren Bereich des Spektrums liegen. Acetonitril (C_2H_3N ; ACN) absorbiert im Vergleich zu Methanol in einem niedrigeren Bereich mit einem geringeren Spektrum. Damit eignet sich ACN besonders als Lösungsmittel für Acrylate, um Absorptionsüberlagerungen zu vermeiden (32).

Die Wahl der Säule begründet sich durch die Wahl des Laufmittels und des Elutionsmediums. Kunstspeichel ist wässrig. Die hier verwendete Säule (EC 125/2 Nucleosil 100-5 C18 Nautilus; Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) ist mit einem sehr hohen Wasseranteil in der mobilen Phase kompatibel. Der gewählte Gradient (C_2H_3N 90 %, aqua dest. 10 %) beginnt zunächst mit einem hohen Wasseranteil (90 %), anschließend wird der ACN Anteil von initial 10 % kontinuierlich erhöht. Es wird also von polaren zu apolaren Bedingungen gewechselt. Substanzen, die besonders polar sind und entsprechend kurzweilig die stationäre Phase passieren, könnten schon mit dem sogenannten Totvolumen zu Beginn der Messung durchrauschen, wenn initial kein ACN beigemischt ist (32).

Als Fließgeschwindigkeit wurde 0,25 mL/Min gewählt. In Verbindung mit den eingesetzten Vor- und Hauptsäulen konnte so ein angemessener Druck eingestellt werden und ermöglichte eine optimale Trennung der Reinsubstanzen im Kalibrierungsstandard (Abb. 3).

Die resultierenden Chromatogramme zeigten im Verlauf der Studie Abweichungen der Peakformen, die eine Varianz der gemessenen Konzentrationen nach sich gezogen haben. Peakverbreiterungen und -überlagerungen, Fronting, Tailing oder Splitpeaks sind häufig zu beobachten (32). Ursachen für Peakveränderungen sind Ablagerungen oder Verschmutzungen der Säule sowie eine falsche Parameterwahl. Mögliche

Verschmutzungen können unter anderem auf Inhaltsstoffe des Kunstspeichels, Debris von Labormaterialien, wie Pipetten oder HPLC-Bauteilen, zurückzuführen sein. Eine übermäßige Verschmutzung der Hauptsäule wurde durch die Ergänzung einer Vorsäule reduziert (33). Um möglichst ideale Peaks zu erhalten, wurde im Laufe der Untersuchungen dreimal die Vorsäule und einmal die Hauptsäule getauscht. Dabei besteht die Möglichkeit, dass Luft in das System der HPLC gelangt und ein Rauschen der Grundlinie im Chromatogramm verursacht. Ein Entlüften und Vorspülen der Säule vor definitiven Messungen konnten diese Beobachtung korrigieren. Außerdem wurde vor und nach jedem HPLC-Lauf das System mit Wasser und ACN gespült. Eine weitere Möglichkeit, Verschmutzungen zu vermeiden, ist die präanalytische Aufreinigung von Proben. Temperaturschwankungen können sich ebenfalls auf die Peakform auswirken, der Einsatz eines Säulenofens minimiert ungewollte Veränderungen. Dabei zeigte sich in Vorversuchen die Wichtigkeit des rechtzeitigen Vorheizens vor einem analytischen Lauf. Die Positionierung der HPLC in einem klimatisierten Raum ist empfehlenswert, um konstante Temperaturen des kompletten Systems zu gewährleisten.

Jeder analytische Lauf wurde mit einer Messung der Kalibrierungsstandards, gelöst in Wasser und Kunstspeichel, begonnen und beendet, um mögliche Abweichungen und Fehlmessungen unmittelbar zu identifizieren. Bis auf kleine Abweichungen der Peakformen, welche auf Ablagerung auf der Hauptsäule zurückzuführen waren, liefen die Messungen komplikationslos. Weitere Abweichungen sollten stetig hinterfragt und beseitigt werden.

Eine erhöhte Streuung der Ergebnisse und mögliche Ausreißer in den Boxplotdiagrammen (Abb. 4-9), wurden durch eine hohe Probenanzahl ausgeglichen. Eine weitere Analyse anhand von Mittelwerten führte zu symmetrischen Messverteilungen. Die Auswertung der Chromatogramme sowie die weitere Verarbeitung der Daten und deren statistische Analyse wurden durch B. J. Kux durchgeführt. Besonders bei der Kontrolle und Auswertung der Chromatogramme können verschiedene Untersucher zu höheren Varianzen bei den AUC-Werten führen.

Zur qualitativen Analyse der HPLC muss erwähnt werden, dass man anhand der Reinsubstanzen in Standards und der resultierenden Retentionszeiten und Spektren von Peaks mit hoher Wahrscheinlichkeit die Substanz der Probe zuordnen kann. Jedoch besteht eine Restwahrscheinlichkeit, dass es sich um andere Substanzen oder Derivate handelt, die vergleichbare Retentionszeiten und Spektren aufweisen.

Allgemein sollte ein Versuchsaufbau möglichst standardisiert und replizierbar sein. Neben Empfehlungen zu Studiendesigns als Ergebnis einer Metaanalyse ist eine Orientierung an Normvorgaben sinnvoll. Gleichzeitig sollten Arbeitsschritte auf mögliche Fehlerquellen überprüft werden. Die Versuchsdurchführung sollte in einem geeigneten Labor, nach striktem Versuchsprotokoll im Bezug auf Pipettierzeitpunkte und nur durch eine Person durchgeführt werden, um vergleichbare Bedingungen bei jeder Messung zu garantieren und Abweichungen der Ergebnisse zu minimieren. Die hier dargestellten Versuche wurden ausschließlich von B. J. Kux durchgeführt. Da mit photopolymerisierenden Werkstoffen gearbeitet wurde, wurde das Labor von direkter UV-Strahlung abgeschirmt, um mögliche Reaktionen der Reinsubstanzen, Standards und Proben zu vermeiden.

Die Anfertigung identischer Probekörper wurde mittels formgebender POM-Ringe, und gleichmäßig beschwerter Objektträger durchgeführt. Eine individuelle Kontrolle jedes Probekörpers auf Abweichungen wie Blasen, Pressfahnen oder Verschmutzungen ist erfolgt. Die Polymerisationsphase wurde mittels einer strikten Zeitmessung sowie der Anfertigung von individuellen Polymerisationsständen (Abb. 1 und 2) standardisiert. Die Polymerisationslampe wurde kontinuierlich mit einem Photometer auf Funktion überprüft. Als Elutionsmedium wurde Kunstspeichel Typ Fusayama / Meyer bei 37 °C (Körpertemperatur) gewählt, um den Versuchsaufbau den In-vivo-Bedingungen zu nähern. Der Austausch zwischen Probekörper und Elutionsmedium wurde durch einen rotierenden Probenschüttler unterstützt. Er simulierte stetigen Speichelfluss und erhöhte den Lösungsdruck auf das Material.

Gleichwohl sind Limitationen in der Übertragbarkeit dieser Studienergebnisse auf In-vivo-Bedingungen zu nennen. Schwankungen der Temperatur und des pH-Werts, mechanischer Stress oder enzymatische Aktivitäten bleiben in diesem Versuchsaufbau unberücksichtigt. Weiterhin ermöglicht dieser Versuchsaufbau keine Messung von flüchtigen Substanzen.

Abschließend konnte dennoch die Freisetzung von drei gesundheitsschädigenden Monomeren aus kieferorthopädischen Materialien belegt und anhand von Grenzwerten und anderen Studien verglichen werden.

4.5 Implikationen für die zukünftige Forschung

Zusammenfassend belegt die heterogene Studienlage die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen bezüglich möglicher Einflussfaktoren auf die Freisetzung von Monomeren aus kieferorthopädischen Materialien.

Die vorliegende Studie liefert eine Grundlage für weitere Untersuchungen und die Möglichkeit, unter der Voraussetzung vergleichbarer Studienprotokolle, Ergebnisse verlässlich zuzuordnen und zu vergleichen (11).

Allgemein sollten in vitro die Einflüsse auf die Monomerfreisetzung von pH-Wert-Schwankungen, Temperaturschwankungen, Varianten der Oberflächenbearbeitung oder das Volumen- / Oberflächenverhältnis auf Basis eines einheitlichen Versuchsaufbaus überprüft und bewertet werden. Möglichkeiten der Monomerreduktion im klinischen Bereich sowie im zahntechnischen Labor sollten ebenfalls Gegenstand weiterer Studien sein. Die Ausweitung auf weitere Materialien wie thermoplastische für die Herstellung von Alignern, Retentionsschienen und weiteren Behandlungsapparaturen ist indiziert.

Eine weitere Annäherung an In-vivo-Verhältnisse ist wünschenswert. Mögliche Versuchsaufbauten sollten eine mechanische Belastung der Probekörper während der Elution simulieren oder Patientenspeichel als Elutionsmittel verwenden. Die Auswirkungen enzymatischer und muskulärer Aktivität sind noch weitgehend unbekannte Faktoren.

Simultan sollten weitere In-vivo-Untersuchungen durchgeführt werden. Weitergehend ist es wünschenswert, gesundheitsbeeinflussende Substanzen zu identifizieren und Grenzwerte für deren maximale Aufnahme festzulegen.

Als Grundsatz gilt jedoch, die Exposition von Patient*innen und Behandler*innen gegenüber gesundheitsschädigenden Monomeren zu minimieren.

4.6 Implikationen für die Praxis

Der Einsatz verschiedener Werkstoffe im Therapieverlauf erfordert das Wissen über Indikationen, Limitationen und potenzielle Nebenwirkungen. Eine intensive Aufklärung der Patient*innen durch die Behandler*innen über Therapiewahl, Risiken einer Behandlung und mögliche Therapiealternativen ist obligat. Mögliche verbundene Risiken sind auf ein Minimum zu reduzieren.

Der Grenzwert zur maximalen täglichen Aufnahme von BPA von 4 µg pro kg Körpergewicht pro Tag [$\mu\text{g}/\text{kg body weight}/\text{d}$], gesetzt durch die EFSA im Jahr 2015 (30), wurde in dieser Studie nicht überschritten. Für TEGDMA und UDMA existieren bis dato keine Grenzwerte. Das allgemeine Ziel sollte dennoch sein, die Monomereexposition für Behandler*innen und Patient*innen zu minimieren. Neben dentalen Werkstoffen sind auch diverse Alltagsgegenstände wie Verpackungsmaterialien oder Farben mögliche Monomerquellen und sollten bei der Abschätzung einer Gesamtexposition berücksichtigt werden (36). Ein weiterer Aspekt in Hinblick auf eine potenziell höhere Monomeraufnahme sind die verschiedenen Aufnahmewege und -orte neben der Mundhöhle. Vor allem flüchtige Monomere, die durch die HPLC nicht detektiert werden, können über den Respirationstrakt aufgenommen werden. Weitergehend ist eine Aufnahme über physischen Kontakt und über den Gastrointestinaltrakt möglich (54). Eine kumulative oder langfristige Exposition in geringen Dosen sollte ebenfalls nicht unterschätzt und berücksichtigt werden (55, 56).

Die meisten kieferorthopädischen Patient*innen sind Jugendliche. Diese Altersstufe ist mit einem starken körperlichen Wachstum und hormonellen Veränderungen assoziiert. Endokrin aktive Substanzen wie BPA können somit einen Einfluss auf die Entwicklung dieser Patient*innen nehmen, dabei sollten Schwangere besonders geschützt werden (7, 36, 57).

Diese und andere Studien zeigen, dass während der initialen Elutionsperiode besonders hohe Mengen an Monomeren freigesetzt werden. Daraus sollten klinische Konsequenzen abgeleitet werden (40, 43, 58, 59). Theodore Eliades hat 2017 einen Artikel mit Empfehlungen zum Umgang mit BPA im klinischen Alltag veröffentlicht, welche hier weiter ergänzt werden (43). Die Verwendung einer möglichst geringen Menge von monomerhaltigen Materialien sowie das Entfernen von Überschüssen vor einer Polymerisation sind empfehlenswert. Bei der Polymerisation sollte eine möglichst hohe Konversionsrate erzielt werden, um den Restmonomergehalt zu minimieren. Eine möglichst lange Belichtungszeit bei geringem Abstand unter Nutzung einer LED-Polymerisationslampe kann die Monomerfreisetzung reduzieren (42, 50). Ferner kann eine Oberflächenbearbeitung nach Einbringen der Materialien in die Mundhöhle Restmonomere entfernen (18). Besonders effektiv erfolgt die Eliminierung von BPA mit einer Bimsstein-Politur (60). Die Anwendung sollte entweder manuell mit einem Wattepellet oder maschinell mit einem rotierenden Gummikelch erfolgen (61). Zusätzlich kann Gurgeln mit Wasser oder die Verwendung der Luft-Wasser-Düse am

Behandlungsstuhl den Monomergehalt im Speichel reduzieren (62). Beim Ein- und Ausbringen von festsitzenden Apparaturen sollten zur Aerosolreduktion Sauger verwendet werden. Das Tragen von Handschuhen, Schutzbrillen und eines Nasenmundschutzes während der Behandlung oder Bearbeitung von Polymeren ist obligat. Die Verwendung eines Kofferdams zum Schutz vor Speichelkontamination und der Gingiva vor Monomereexposition ist in der Kieferorthopädie als impraktikabel einzustufen.

Auch die Auswahl der Materialien kann die Monomereexposition wesentlich beeinflussen. Vergleicht man die hier untersuchten Materialien, sind Transbond™ XT und BrackFix® mit der gleichen Indikation, dem Kleben von Brackets, von Interesse. Die Untersuchungsergebnisse zeigen, dass BrackFix® im Vergleich mit Transbond™ XT eine deutlich geringere Freisetzung von BPA hat. Vorausgesetzt, dass weitere Materialeigenschaften wie Zug- und Scherfestigkeit oder die klinische Verarbeitung vergleichbar sind und somit ein gehäuftes Neukleben der Brackets vermeidbar ist, sollte auf dieser Datenbasis BrackFix® vorgezogen werden (63).

Eine weitere Möglichkeit, das Neukleben beziehungsweise Umkleben von Brackets und somit eine zusätzliche Monomereexposition zu vermeiden, ist neben einer intensiven Aufklärung der Patient*innen über den Umgang mit festsitzenden kieferorthopädischen Apparaturen das gehäufte Einsetzen von individuell gebogenen Bögen im Therapieverlauf. Finishingbiegungen durch die Behandler*innen selbst oder der Einsatz von CAD/CAM–Technologien (Computer-aided design and Computer-aided manufacturing) können unterstützend wirken. CAD/CAM-Ansätze wie das Nutzen von patient*innenindividuellen maschinell gefertigten Bögen oder das Kleben von Brackets in einer möglichst optimalen Position mittels Übertragungstrays sind hier als mögliche Beispiele zu nennen, um Umkleben und wiederholte Monomereexposition zu vermeiden (64, 65).

Grundsätzlich ist ein Ausweichen auf alternative Materialien ohne Monomerfreisetzung bei gleicher Indikation empfehlenswert, solange es die klinische Situation und die jeweiligen Werkstoffeigenschaften erlauben. Beispielsweise können Glasionomere zemente zum Befestigen von Molarenbändern alternativ zu Transbond™ Plus genutzt werden (43). Wenn dennoch ein acrylhaltiges Adhäsiv indiziert ist, sind dualhärtende Materialien zu bevorzugen (42). Gerade bei lichtundurchlässigen Molarenbändern und Metallbrackets ist eine vollständige Polymerisation erschwert, so dass durch zusätzliche Selbstpolymerisation der Restmonomeranteil reduziert wird. Gleichzeitig ist anzumerken,

dass die dem Elutionsmedium exponierte Oberfläche der Adhäsive in der Mundhöhle unter Bändern und Brackets weitaus geringer ist als die der Probekörper in dieser Studie (10). Wie bereits erwähnt, ist laut eines Reviews von Van Landuyt et al. aus dem Jahre 2011 die exponierte Oberfläche ausschlaggebender bei der Monomerfreisetzung als das Volumen (46). Thermoplastische Materialien, welche Anwendung in der Anfertigung von beispielsweise Alignern, Retentionsschienen oder Sportmundschutze finden, setzen ebenfalls Monomere frei (66). Diese Apparaturen weisen im Vergleich zu Multiband- / Multibracketapparaturen weitaus größere exponierte Kunststoffoberflächen auf. Weiterhin werden durch das nötige Wechselintervall bei Alignern von ca. 7 bis 14 Tagen stetig neue monomerhaltige Materialien in die Mundhöhle eingesetzt, was zur erhöhten Monomerbelastung von Patient*innen führen kann. Diese Erkenntnis sollte bei der Wahl von Therapiemitteln berücksichtigt werden.

Bei der Wahl von Brackets sind keramische oder metallische denen aus Polykarbonat vorzuziehen (11). Die Werkstoffeigenschaften der Keramikbrackets führen klinisch häufig zu Frakturen, ein Neukleben ist dann indiziert. Bei Metallbrackets ist dies nicht der Fall, jedoch hat die Art der Bestrahlung einen signifikanten Einfluss auf die Polymerisation und die damit verbundene Monomerfreisetzung. Bei metallischen Brackets sollte bei Verwendung eines lichthärtenden Adhäsives eine tangentielle Bestrahlung der Klebefuge aus verschiedenen Richtungen angestrebt werden. Bei transluzenten keramischen Brackets wirkt sich eine Bestrahlung der frontalen Fläche der Brackets, die direkte Bestrahlung, nicht negativ auf die Menge an freigesetzten Monomeren aus (67).

Um sich den alltäglichen Bedingungen in kieferorthopädischen Praxen zu nähern, wurde trotz Empfehlung einiger Hersteller zu bestimmten Polymerisationslampen, nur eine verwendet. Ein Wechsel zwischen Polymerisationslampen je nach Material ist unwahrscheinlich, die Lichtintensität sollte entsprechend der Verarbeitungshinweise einzelner Materialien angepasst werden. Wenn Herstellerangaben zur Verarbeitung im Sinne von Lichtintensität, Polymerisationszeit und -abstand erfüllt werden, sollte das Modell oder der Hersteller der LED-Polymerisationslampe keinen Einfluss auf die Monomerfreisetzung haben.

Maßnahmen zur Verringerung der Exposition gegenüber potenziell gesundheitsschädigenden Substanzen sollten in den klinischen Alltag aufgenommen und die Wahl von alternativen Werkstoffen sollte in Betracht gezogen werden. Kumulative Wirkungen und Niedrigdosiseffekte sollten dabei bedacht werden, um Patient*innen und Behandler*innen möglichst optimal vor gesundheitlichen Einschränkungen zu schützen.

5. Schlussfolgerungen

Diese In-vitro-Studie hat einen Nachweis der Monomerfreisetzung aus kieferorthopädischen Werkstoffen der festsitzenden Kieferorthopädie mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) erbracht.

Die Ergebnisse wurden in den wissenschaftlichen Kontext eingebettet und decken sich mit der aktuellen Studienlage. Methodische Unterschiede wurden aufgezeigt. Ergänzende Standardisierungsprozesse im Versuchsaufbau und Methodik bieten eine valide Grundlage zur weiteren Untersuchung von einflussnehmenden Faktoren auf das Elutionsverhalten von potenziell gesundheitsschädigenden Substanzen. Weitere Studien sind indiziert, zusätzliche In-vivo-Studien sind wünschenswert.

Aus fünf Materialien konnten drei potenziell gesundheitsschädigende Monomere qualitativ und quantitativ nachgewiesen werden: Bisphenol-A (BPA), Triethylenglycol-dimethacrylat (TEGDMA) und Urethandimethacrylat (UDMA). Neben den drei näher analysierten Monomeren wiesen die Chromatogramme weitere Substanzen unter der gesetzten Nachweisschwelle auf.

Nicht alle nachgewiesenen Substanzen finden Erwähnung in den Sicherheitsdatenblättern der Hersteller. Eine Degradation größerer Substanzen in kleinere, welche mittels der HPLC nachgewiesen konnten, ist naheliegend.

Die detektierten Konzentrationen haben die vorgeschriebenen Grenzwerte zur täglichen Aufnahme von BPA nicht überschritten. Offizielle Grenzwerte zur Aufnahme von TEGDMA und UDMA existieren nicht. Die klinische Bedeutung von Monomeren wurde herausgestellt und Empfehlungen für den Umgang mit den Werkstoffen für Behandler*innen und Patient*innen ausgesprochen, um eine Monomereexposition zu minimieren. Eine Weiterentwicklung der Werkstoffe ist zu erwarten.

Literaturverzeichnis

1. Rodriguez-Farre E, Testai E, Bruzell E, De Jong W, Schmalz G, Thomsen M, Hensten A. The safety of dental amalgam and alternative dental restoration materials for patients and users. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016;79:108-9.
2. Bayne SC, Ferracane JL, Marshall GW, Marshall SJ, van Noort R. The Evolution of Dental Materials over the Past Century: Silver and Gold to Tooth Color and Beyond. *J Dent Res.* 2019;98(3):257-65.
3. Rahiotis C, Eliades T, Silikas N, Eliades G. Research on Orthodontic polymers. *Research Methods in Orthodontics: Springer;* 2013. p. 35-60.
4. Bowen RL. Properties of a silica-reinforced polymer for dental restorations. *J Am Dent Assoc.* 1963;66:57-64.
5. Hervas-Garcia A, Martinez-Lozano MA, Cabanes-Vila J, Barjau-Escribano A, Fos-Galve P. Composite resins. A review of the materials and clinical indications. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006;11(2):E215-20.
6. Chung KH, Greener EH. Correlation between degree of conversion, filler concentration and mechanical properties of posterior composite resins. *J Oral Rehabil.* 1990;17(5):487-94.
7. Gosavi SS, Gosavi SY, Alla RK. Local and systemic effects of unpolymerised monomers. *Dent Res J (Isfahan).* 2010;7(2):82-7.
8. Chen D, Kannan K, Tan H, Zheng Z, Feng YL, Wu Y, Widelka M. Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity-A Review. *Environ Sci Technol.* 2016;50(11):5438-53.
9. Goldberg M. In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. *Clin Oral Investig.* 2008;12(1):1-8.
10. Eliades T, Hiskia A, Eliades G, Athanasiou AE. Assessment of bisphenol-A release from orthodontic adhesives. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2007;131(1):72-5.
11. Kloukos D, Pandis N, Eliades T. Bisphenol-A and residual monomer leaching from orthodontic adhesive resins and polycarbonate brackets: a systematic review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2013;143(4 Suppl):S104-12 e1-2.
12. Papakonstantinou AE, Eliades T, Cellesi F, Watts DC, Silikas N. Evaluation of UDMA's potential as a substitute for Bis-GMA in orthodontic adhesives. *Dent Mater.* 2013;29(8):898-905.
13. Durner J, Wellner P, Hickel R, Reichl FX. Synergistic interaction caused to human gingival fibroblasts from dental monomers. *Dent Mater.* 2012;28(8):818-23.
14. Frese C, Wolff D, Kruger T, Staehle HJ, Lux CJ, Erber R. Biological evaluation of subgingivally placed direct resin composite materials. *J Oral Sci.* 2018;60(1):89-96.
15. Lithner D, Larsson A, Dave G. Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition. *Sci Total Environ.* 2011;409(18):3309-24.
16. Durner J, Walther UI, Zaspel J, Hickel R, Reichl FX. Metabolism of TEGDMA and HEMA in human cells. *Biomaterials.* 2010;31(5):818-23.
17. Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgartten FJ, Schoenfelder G. Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environ Health Perspect.* 2010;118(8):1055-70.

18. Kang YG, Kim JY, Kim J, Won PJ, Nam JH. Release of bisphenol A from resin composite used to bond orthodontic lingual retainers. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011;140(6):779-89.
19. Ramos L, Cabral R, Goncalo M. Allergic contact dermatitis caused by acrylates and methacrylates--a 7-year study. *Contact Dermatitis.* 2014;71(2):102-7.
20. Lindstrom M, Alanko K, Keskinen H, Kanerva L. Dentist's occupational asthma, rhinoconjunctivitis, and allergic contact dermatitis from methacrylates. *Allergy.* 2002;57(6):543-5.
21. Kleinsasser NH, Schmid K, Sassen AW, Harreus UA, Staudenmaier R, Folwaczny M, Glas J, Reichl FX. Cytotoxic and genotoxic effects of resin monomers in human salivary gland tissue and lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (Comet) assay. *Biomaterials.* 2006;27(9):1762-70.
22. Zingler S, Matthei B, Diercke K, Frese C, Ludwig B, Kohl A, Lux CJ, Erber R. Biological evaluation of enamel sealants in an organotypic model of the human gingiva. *Dent Mater.* 2014;30(9):1039-51.
23. Le Fol V, Ait-Aissa S, Sonavane M, Porcher JM, Balaguer P, Cravedi JP, Zalko D, Brion F. In vitro and in vivo estrogenic activity of BPA, BPF and BPS in zebrafish-specific assays. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2017;142:150-6.
24. Urcan E, Scherthan H, Styllou M, Haertel U, Hickel R, Reichl FX. Induction of DNA double-strand breaks in primary gingival fibroblasts by exposure to dental resin composites. *Biomaterials.* 2010;31(8):2010-4.
25. Schonfelder 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.* 2002;110(11):A703-7.
26. Zhou Y, Wang Z, Xia M, Zhuang S, Gong X, Pan J, Li C, Fan R, Pang Q, Lu S. Neurotoxicity of low bisphenol A (BPA) exposure for young male mice: Implications for children exposed to environmental levels of BPA. *Environ Pollut.* 2017;229:40-8.
27. Jedeon K, Loiodice S, Marciano C, Vinel A, Canivenc Lavier MC, Berdal A, Babajko S. Estrogen and bisphenol A affect male rat enamel formation and promote ameloblast proliferation. *Endocrinology.* 2014;155(9):3365-75.
28. Maserejian NN, Shrader P, Trachtenberg FL, Hauser R, Bellinger DC, Tavares M. Dental sealants and flowable composite restorations and psychosocial, neuropsychological, and physical development in children. *Pediatr Dent.* 2014;36(1):68-75.
29. fda.gov [Internet]. American Food and Drug Administration, FDA. Bisphenol A (BPA): Use in food contact application; c2022 [cited 2022 Feb 12]. Available from: <http://www.fda.gov/newsevents/publichealthfocus/ucm064437.htm#current>.
30. efsa.europa.eu. [Internet]. European Food Safety Authority, EFSA. Bisphenol A; c2022 [cited 2022 Feb 12]. Available from: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol>.
31. Cwiek-Ludwicka K. Bisphenol A (BPA) in food contact materials - new scientific opinion from EFSA regarding public health risk. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2015;66(4):299-307.
32. Meyer VR. *Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie*. Wiley-VCH, Weinheim; 2009.
33. Unger KK, Weber E. *Handbuch der HPLC: Leitfaden für Anfänger und Praktiker*. GIT-Verlag, Darmstadt; 1995.

34. Kux BJ, Bacigalupo LM, Scriba A, Emmrich M, Jost-Brinkmann PG. Elution study of acrylic monomers from orthodontic materials using high performance liquid chromatography (HPLC). *J Orofac Orthop.* 2022;83(1):34-47.
35. Bationo R, Jordana F, Boileau MJ, Colat-Parros J. Release of monomers from orthodontic adhesives. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2016;150(3):491-8.
36. Kotyk MW, Wiltshire WA. An investigation into bisphenol-A leaching from orthodontic materials. *Angle Orthod.* 2014;84(3):516-20.
37. Malkiewicz K, Turlo J, Marciniuk-Kluska A, Grzech-Lesniak K, Gasior M, Kluska M. Release of bisphenol A and its derivatives from orthodontic adhesive systems available on the European market as a potential health risk factor. *Ann Agric Environ Med.* 2015;22(1):172-7.
38. Pratap B, Gupta RK, Bhardwaj B, Nag M. Resin based restorative dental materials: characteristics and future perspectives. *Jpn Dent Sci Rev.* 2019;55(1):126-38.
39. Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtsen W. Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *J Dent.* 1998;26(2):137-45.
40. Pelourde C, Bationo R, Boileau MJ, Colat-Parros J, Jordana F. Monomer release from orthodontic retentions: An in vitro study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2018;153(2):248-54.
41. Moldovan M, Balazsi R, Soanca A, Roman A, Sarosi C, Prodan D, Vlassa M, Cojocaru I, Saceleanu V, Cristescu I. Evaluation of the Degree of Conversion, Residual Monomers and Mechanical Properties of Some Light-Cured Dental Resin Composites. *Materials (Basel).* 2019;12(13).
42. Purushothaman D, Kailasam V, Chitharanjan AB. Bisphenol A release from orthodontic adhesives and its correlation with the degree of conversion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2015;147(1):29-36.
43. Eliades T. Bisphenol A and orthodontics: An update of evidence-based measures to minimize exposure for the orthodontic team and patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2017;152(4):435-41.
44. Pulgar R, Olea-Serrano MF, Novillo-Fertrell A, Rivas A, Pazos P, Pedraza V, Navajas JM, Olea N. Determination of bisphenol A and related aromatic compounds released from bis-GMA-based composites and sealants by high performance liquid chromatography. *Environ Health Perspect.* 2000;108(1):21-7.
45. Tanaka K, Taira M, Shintani H, Wakasa K, Yamaki M. Residual monomers (TEGDMA and Bis-GMA) of a set visible-light-cured dental composite resin when immersed in water. *J Oral Rehabil.* 1991;18(4):353-62.
46. Van Landuyt KL, Nawrot T, Geebelen B, De Munck J, Snauwaert J, Yoshihara K, Scheers H, Godderis L, Hoet P, Van Meerbeek B. How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dent Mater.* 2011;27(8):723-47.
47. Tsitrou E, Kelogrigoris S, Koulaouzidou E, Antoniadou-Halvatjoglou M, Koliniotou-Koumpia E, van Noort R. Effect of extraction media and storage time on the elution of monomers from four contemporary resin composite materials. *Toxicol Int.* 2014;21(1):89-95.
48. Watanabe M, Hase T, Imai Y. Change in the bisphenol A content in a polycarbonate orthodontic bracket and its leaching characteristics in water. *Dent Mater J.* 2001;20(4):353-8.
49. Atkinson JC, Diamond F, Eichmiller F, Selwitz R, Jones G. Stability of bisphenol A, triethylene-glycol dimethacrylate, and bisphenol A dimethacrylate in whole saliva. *Dent Mater.* 2002;18(2):128-35.

50. Sunitha C, Kailasam V, Padmanabhan S, Chitharanjan AB. Bisphenol A release from an orthodontic adhesive and its correlation with the degree of conversion on varying light-curing tip distances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011;140(2):239-44.
51. Eliades T, Voutsas D, Sifakakis I, Makou M, Katsaros C. Release of bisphenol-A from a light-cured adhesive bonded to lingual fixed retainers. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2011;139(2):192-5.
52. Manoj MK, Ramakrishnan R, Babjee S, Nasim R. High-performance liquid chromatography analysis of salivary bisphenol A levels from light-cured and chemically cured orthodontic adhesives. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2018;154(6):803-8.
53. Viljanen EK, Langer S, Skrifvars M, Vallittu PK. Analysis of residual monomers in dendritic methacrylate copolymers and composites by HPLC and headspace-GC/MS. *Dent Mater.* 2006;22(9):845-51.
54. Hahladakis JN, Velis CA, Weber R, Iacovidou E, Purnell P. An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *J Hazard Mater.* 2018;344:179-99.
55. vom Saal FS, Akingbemi BT, Belcher SM, Birnbaum LS, Crain DA, Eriksen M, Farabolini F, Guillette LJ, Jr., Hauser R, Heindel JJ, Ho SM, Hunt PA, Iguchi T, Jobling S, Kanno J, Keri RA, Knudsen KE, Laufer H, LeBlanc GA, Marcus M, McLachlan JA, Myers JP, Nadal A, Newbold RR, Olea N, Prins GS, Richter CA, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM, Talsness CE, Vandenberg JG, Vandenberg LN, Walser-Kuntz DR, Watson CS, Welshons WV, Wetherill Y, Zoeller RT. Chapel Hill bisphenol A expert panel consensus statement: integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure. *Reprod Toxicol.* 2007;24(2):131-8.
56. Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR, Jr., Lee DH, Shioda T, Soto AM, vom Saal FS, Welshons WV, Zoeller RT, Myers JP. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocr Rev.* 2012;33(3):378-455.
57. Welshons WV, Thayer KA, Judy BM, Taylor JA, Curran EM, vom Saal FS. Large effects from small exposures. I. Mechanisms for endocrine-disrupting chemicals with estrogenic activity. *Environ Health Perspect.* 2003;111(8):994-1006.
58. Fung EY, Ewoldsen NO, St Germain HA, Jr., Marx DB, Miaw CL, Siew C, Chou HN, Gruninger SE, Meyer DM. Pharmacokinetics of bisphenol A released from a dental sealant. *J Am Dent Assoc.* 2000;131(1):51-8.
59. Moreira MR, Matos LG, de Souza ID, Brigante TA, Queiroz ME, Romano FL, Nelson-Filho P, Matsumoto MA. Bisphenol A release from orthodontic adhesives measured in vitro and in vivo with gas chromatography. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2017;151(3):477-83.
60. Bezgin T, Cimen C, Ozalp N. Evaluation of Residual Monomers Eluted from Pediatric Dental Restorative Materials. *Biomed Res Int.* 2021;2021:6316171.
61. Rueggeberg FA, Dlugokinski M, Ergle JW. Minimizing patients' exposure to uncured components in a dental sealant. *J Am Dent Assoc.* 1999;130(12):1751-7.
62. Sasaki N, Okuda K, Kato T, Kakishima H, Okuma H, Abe K, Tachino H, Tsuchida K, Kubono K. Salivary bisphenol-A levels detected by ELISA after restoration with composite resin. *J Mater Sci Mater Med.* 2005;16(4):297-300.
63. Knaup I, Boddeker A, Tempel K, Weber E, Bartz JR, Ruckbeil MV, Craveiro RB, Wagner Y, Wolf M. Analysing the potential of hydrophilic adhesive systems to optimise orthodontic bracket rebonding. *Head Face Med.* 2020;16(1):20.

64. Muller-Hartwich R, Prager TM, Jost-Brinkmann PG. SureSmile--CAD/CAM system for orthodontic treatment planning, simulation and fabrication of customized archwires. *Int J Comput Dent.* 2007;10(1):53-62.
65. Xue C, Xu H, Guo Y, Xu L, Dhami Y, Wang H, Liu Z, Ma J, Bai D. Accurate bracket placement using a computer-aided design and computer-aided manufacturing-guided bonding device: An in vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2020;157(2):269-77.
66. Iliadi A, Koletsi D, Papageorgiou SN, Eliades T. Safety Considerations for Thermoplastic-Type Appliances Used as Orthodontic Aligners or Retainers. A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical and In-Vitro Research. *Materials (Basel).* 2020;13(8).
67. Eliades T, Eliades G, Brantley WA, Johnston WM. Residual monomer leaching from chemically cured and visible light-cured orthodontic adhesives. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1995;108(3):316-21.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Benjamin Jakob Kux, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC): Ein qualitativer und quantitativer Nachweis der Monomerfreisetzung aus kieferorthopädischen Werkstoffen // High Performance Liquid Chromatography (HPLC): Identification and quantitative analysis of monomers eluting from orthodontic materials“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Benjamin Jakob Kux hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1:

Kux BJ, Bacigalupo LM, Scriba A, Emmrich M, Jost-Brinkmann PG. Elution study of acrylic monomers from orthodontic materials using high performance liquid chromatography (HPLC). Journal of Orofacial Orthopedics / Fortschritte der Kieferorthopädie (J Orofac Orthop. 2022;83(1):34-47). 2022

Beitrag im Einzelnen:

Die der Publikation zugrunde liegenden Daten wurden ausschließlich durch Benjamin Jakob Kux generiert, ausgewertet und interpretiert. Die schriftliche Leistung, einschließlich aller Tabellen und Abbildungen, wurde durch den Erstautor Benjamin Jakob Kux erbracht. Unterstützend und korrigierend war Dr. Alexander Scriba sowie Dr. Luisa Maria Bacigalupo tätig. PD Dr. Monika Emmrich beriet bei spezifischen Fragestellungen im Labor zur Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und stellte entsprechende Literatur ergänzend zur Verfügung. Eine unterstützende und beratende Funktion hatte Prof. Dr. Paul-Georg Jost-Brinkmann während der kompletten Projektlaufzeit in allen Belangen, der auch die finalen Korrekturen vorgenommen hat.

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2018** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **“DENTISTRY, ORAL SURGERY and MEDICINE”**
 Selected Category Scheme: WoS
Gesamtanzahl: 90 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	PERIODONTOLOGY 2000	4,534	7.861	0.005740
2	JOURNAL OF DENTAL RESEARCH	20,078	5.125	0.021290
3	DENTAL MATERIALS	14,193	4.440	0.013220
4	JOURNAL OF CLINICAL PERIODONTOLOGY	14,049	4.164	0.013240
5	CLINICAL ORAL IMPLANTS RESEARCH	13,819	3.825	0.015930
6	ORAL ONCOLOGY	9,033	3.730	0.013340
7	INTERNATIONAL ENDODONTIC JOURNAL	6,767	3.331	0.006630
8	PEDIATRIC DENTISTRY	3,000	3.312	0.001950
9	JOURNAL OF DENTISTRY	8,950	3.280	0.011810
10	Clinical Implant Dentistry and Related Research	3,945	3.212	0.008420
11	Molecular Oral Microbiology	889	2.925	0.001800
12	JOURNAL OF ENDODONTICS	15,755	2.833	0.011700
13	JOURNAL OF PROSTHETIC DENTISTRY	12,350	2.787	0.008700
14	JOURNAL OF PERIODONTOLOGY	15,479	2.768	0.011520
15	International Journal of Oral Science	1,123	2.750	0.002290
16	Journal of Prosthodontic Research	937	2.636	0.001860
17	ORAL DISEASES	4,062	2.625	0.004740
18	JOURNAL OF PERIODONTAL RESEARCH	4,211	2.613	0.004310
19	JOURNAL OF THE AMERICAN DENTAL ASSOCIATION	6,822	2.572	0.004070
20	European Journal of Oral Implantology	1,127	2.513	0.002320

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
21	Clinical Oral Investigations	5,699	2.453	0.011690
22	JOURNAL OF ORAL REHABILITATION	5,882	2.341	0.005010
23	CARIES RESEARCH	4,326	2.326	0.003080
24	COMMUNITY DENTISTRY AND ORAL EPIDEMIOLOGY	4,609	2.278	0.003440
25	Journal of Prosthodontics-Implant Esthetic and Reconstructive Dentistry	2,467	2.172	0.003200
26	International Journal of Paediatric Dentistry	2,205	2.057	0.002010
27	BMC Oral Health	2,444	2.048	0.005340
28	JOURNAL OF ORAL PATHOLOGY & MEDICINE	4,643	2.030	0.003770
29	OPERATIVE DENTISTRY	3,342	2.027	0.003380
30	INTERNATIONAL JOURNAL OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY	7,862	1.961	0.009700
31	JOURNAL OF CRANIO-MAXILLOFACIAL SURGERY	5,649	1.942	0.010350
32	AMERICAN JOURNAL OF ORTHODONTICS AND DENTOFACIAL ORTHOPEDICS	13,100	1.911	0.006700
33	ANGLE ORTHODONTIST	6,075	1.880	0.004630
34	JOURNAL OF ADHESIVE DENTISTRY	1,692	1.875	0.001950
35	EUROPEAN JOURNAL OF ORTHODONTICS	4,305	1.841	0.003630
36	Odontology	735	1.813	0.001270
37	EUROPEAN JOURNAL OF ORAL SCIENCES	3,570	1.810	0.002470
38	JOURNAL OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY	14,128	1.781	0.012080
39	Brazilian Oral Research	1,490	1.773	0.002240
40	INTERNATIONAL JOURNAL OF ORAL & MAXILLOFACIAL IMPLANTS	8,188	1.734	0.008720

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
41	Journal of Esthetic and Restorative Dentistry	1,167	1.716	0.001540
42	Australian Endodontic Journal	398	1.714	0.000580
43	Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology	14,044	1.690	0.007170
44	ARCHIVES OF ORAL BIOLOGY	7,556	1.663	0.006680
45	INTERNATIONAL DENTAL JOURNAL	2,253	1.628	0.001480
46	ACTA ODONTOLOGICA SCANDINAVICA	3,711	1.565	0.003460
47	INTERNATIONAL JOURNAL OF PROSTHODONTICS	3,920	1.533	0.002750
48	European Journal of Dental Education	1,182	1.531	0.000860
49	DENTOMAXILLOFACIAL RADIOLOGY	2,844	1.525	0.002800
50	JOURNAL OF DENTAL EDUCATION	3,539	1.506	0.001990
50	Journal of Applied Oral Science	1,876	1.506	0.002270
52	DENTAL TRAUMATOLOGY	2,258	1.494	0.001580
53	Head & Face Medicine	786	1.492	0.001130
54	Korean Journal of Orthodontics	472	1.476	0.001040
55	Journal of Periodontal and Implant Science	436	1.472	0.001010
56	CLEFT PALATE-CRANIOFACIAL JOURNAL	4,473	1.471	0.002620
57	GERODONTOLOGY	1,617	1.460	0.001640
58	Journal of Oral & Facial Pain and Headache	479	1.443	0.001700
59	BRITISH DENTAL JOURNAL	5,441	1.438	0.004140
60	DENTAL MATERIALS JOURNAL	2,560	1.424	0.002700
61	QUINTESSENCE INTERNATIONAL	2,707	1.392	0.002130
62	Progress in Orthodontics	548	1.381	0.001550

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
63	Journal of Advanced Prosthodontics	837	1.360	0.001750
64	JOURNAL OF PUBLIC HEALTH DENTISTRY	1,560	1.350	0.001350
65	Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal	2,471	1.284	0.002800
66	AUSTRALIAN DENTAL JOURNAL	2,719	1.282	0.002240
67	Journal of Evidence-Based Dental Practice	501	1.253	0.000970
68	International Journal of Dental Hygiene	800	1.233	0.000860
69	INTERNATIONAL JOURNAL OF PERIODONTICS & RESTORATIVE DENTISTRY	3,080	1.228	0.002960
70	Implant Dentistry	1,989	1.214	0.003060
71	International Journal of Computerized Dentistry	451	1.208	0.000590
72	BRITISH JOURNAL OF ORAL & MAXILLOFACIAL SURGERY	4,444	1.164	0.005880
73	CRANIO-The Journal of Craniomandibular & Sleep Practice	932	1.144	0.000670
74	Journal of Oral Science	1,323	1.104	0.001260
75	COMMUNITY DENTAL HEALTH	1,228	1.079	0.001010
76	Journal of Oral Implantology	1,529	1.062	0.002280
77	Journal of Stomatology Oral and Maxillofacial Surgery	65	0.962	0.000140
78	Orthodontics & Craniofacial Research	991	0.946	0.001250
79	Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America	845	0.935	0.001250
80	Journal of Orofacial Orthopedics-Fortschritte der Kieferorthopädie	816	0.927	0.000890
81	Oral Health & Preventive Dentistry	794	0.902	0.000990
82	European Journal of Paediatric Dentistry	754	0.870	0.000810

Originalpublikation

J Orofac Orthop (2022) 83:34–47
<https://doi.org/10.1007/s00056-021-00292-4>

ORIGINAL ARTICLE



Elution study of acrylic monomers from orthodontic materials using high performance liquid chromatography (HPLC)

B. J. Kux¹ · L. M. Bacigalupo¹ · A. Scriba¹ · M. Emmrich¹ · P.-G. Jost-Brinkmann¹

Received: 4 November 2019 / Accepted: 6 February 2021 / Published online: 14 April 2021
© The Author(s) 2021

Abstract

Purpose Main goal of the study was the identification and quantitative analysis of monomer elution from materials commonly used in fixed orthodontic therapy. Studies have shown severe health effects of monomers including cytotoxic, allergenic or mutagenic potential and endocrine changes. This in vitro study focusses primarily on five resins which are usually processed intraorally and remain in the oral cavity long-term.

Methods We tested the elution of monomers from specimens (7.5 mm × 1.5 mm) immersed in artificial saliva at body temperature (37 °C) for 30 min to 5 weeks. The used method is in accordance with DIN EN ISO 10993-13. The five tested materials were BrackFix® (Voco GmbH, Cuxhaven, Germany), Triad®Gel (DeguDent GmbH, Hanau, Germany), and Transbond™ XT, LR and Plus (3M Unitek, Monrovia, CA, USA). All aliquots were analyzed using high performance liquid chromatography (HPLC). Data were statistically analyzed.

Results All five analyzed materials eluted substances over a period of 5 weeks. Identified substances included bisphenol A (BPA), triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA) and urethane dimethacrylate (UDMA). BPA eluted from Transbond™ Plus, XT, LR and BrackFix®. The cumulated mean values after 35 days ranged from 16.04 to 64.83 ppm, depending on the material. TEGDMA eluted with a mean of 688.61 ppm from Transbond™ LR. UDMA with a mean of 1682.00 ppm from Triad®Gel. For each material the highest concentrations of all these substances were found in the first elution period. Other substances that were not unequivocally identified or of low concentration also eluted.

Conclusion Using the described method, it is possible to qualitatively and quantitatively determine the in vitro elution of monomers from orthodontic materials. The concentrations of the substances identified were below the current maximum recommended intake. However, a cumulative effect and low-dose effects should be considered for both patients and dental professionals, especially for young patients. Measures to reduce exposure patients and practitioners are suggested.

Keywords Bisphenol A-glycidyl dimethacrylate · Triethylene glycol dimethacrylate · Urethane dimethacrylate · Adhesives · Orthodontic appliances, fixed

Untersuchung zur Freisetzung von Monomeren aus acrylhaltigen Materialien in der Kieferorthopädie mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Zusammenfassung

Ziel Das übergeordnete Ziel dieser Untersuchung war die qualitative und quantitative Untersuchung gebräuchlicher kieferorthopädischer Materialien hinsichtlich ihrer Monomereisetzung. Studien haben erhebliche gesundheitliche Auswirkungen von Monomeren nachgewiesen, etwa ihr zytotoxisches, allergenes bzw. mutagenes Potenzial und endokrine Veränderungen. Diese In-vitro-Studie konzentriert sich vor allem auf 5 Kunststoffe, die in der Regel intraoral verarbeitet werden und langfristig dort verbleiben.

Shared conference award 2018 for the best lecture of a junior scientist at the 91st annual meeting of the DGKFO in Bremen, Germany.

✉ B. J. Kux
kfo@charite.de

¹ Institute of Dental, Oral and Maxillary Medicine, Department of Orthodontics, Dentofacial Orthopedics and Pedodontics, Charité—Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität Berlin and Humboldt-Universität zu Berlin, Abmannshäuser Str. 4–6, 14197 Berlin, Germany

Methoden Untersucht wurde die Freisetzung von Monomeren aus Proben (7.5 mm × 1.5 mm), die bei Körpertemperatur (37 °C) für 30 min bis 5 Wochen in künstlichen Speichel getaucht wurden. Die dabei verwendete Methode ist konform mit DIN EN ISO 10993-13. Die 5 getesteten Materialien waren BrackFix® (Voco GmbH, Cuxhaven), Triad®Gel (DeguDent GmbH, Hanau) und Transbond™ XT, LR und Plus (3M Unitek, Monrovia/CA, USA). Alle Aliquots wurden mit Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) analysiert.

Ergebnisse Alle 5 analysierten Materialien eluierten Substanzen über einen Zeitraum von 5 Wochen. Zu den identifizierten Substanzen gehörten Bisphenol A (BPA), Triethylenglykol-Dimethacrylat (TEGDMA) und Urethan-Dimethacrylat (UDMA). BPA wurde aus Transbond™ Plus, XT, LR und BrackFix® eluiert. Die kumulierten Mittelwerte nach 35 Tagen reichten je nach Material von 16,04–64,83 ppm. TEGDMA eluierte mit einem Mittelwert von 688,61 ppm aus Transbond™ LR, UDMA mit einem Mittelwert von 1682,00 ppm aus Triad®Gel. Höchstwerte im Verhältnis von Menge zur Zeit der freigesetzten Substanzen wurden für jedes Material in der initialen Periode ermittelt. Weitere, nicht identifizierte sowie gering konzentrierte Substanzen wurden ebenfalls eluiert. Für jedes Material wurden die höchsten Konzentrationen aller dieser Substanzen in der ersten Elutionsperiode gefunden. Andere Substanzen, die nicht eindeutig identifiziert wurden oder von geringer Konzentration waren, wurden ebenfalls eluiert.

Schlussfolgerung Mit der beschriebenen Methode ist es möglich, die In-vitro-Elution von Monomeren aus kieferorthopädischen Materialien qualitativ wie quantitativ zu bestimmen. Die Konzentrationen der identifizierten Substanzen lagen unterhalb der derzeit empfohlenen maximalen Aufnahmemenge. Dennoch sollten eine kumulative Wirkung und Niedrigdosisseffekte sowohl für Patienten, vor allem für junge Patienten, als auch für das zahnärztliche Personal in Erwägung gezogen werden. Maßnahmen zur Verringerung der Exposition von Patienten und Behandelnden werden vorgeschlagen.

Schlüsselwörter Bisphenol-A-Glycidyl-Dimethacrylat · Triethylenglykol-Dimethacrylat · Urethan-Dimethacrylat · Klebstoffe · Festsitzende kieferorthopädische Apparaturen

Introduction

An orthodontic treatment requires various materials for removable and fixed appliances. The period of time orthodontic appliances stay in the oral cavity ranges from minutes to several years, where environmental influences affect the materials' durability and biodegradation. Important variables include thermal and pH value changes, enzymatic and bacterial activity, or mechanical alteration. For example, food, saliva, muscular activity and the stress from dimensional changes cause extreme conditions for any material.

Besides different metal alloys and ceramics, various resins with similar composition to dental fillings are frequently used for multiple appliances and purposes in treatments. In orthodontics, acrylic monomers are for example found in aligners, removable appliances such as functional appliances or removable retainers or as bonding material between teeth and brackets or lingual retainers.

The chemical composition of dental and orthodontic resins and polymers can be divided into three major components. Namely, an organic phase, a disperse phase with inorganic fillers determining mechanical and physical properties, and a bonding phase or coupling agent. Characteristics like viscosity or shrinkage during polymerization differ due to this composition. The organic phase contains monomers, oligomers, initiators, inhibitors and other additives. Main representatives of the monomers are substances with high molecular weight for less shrinkage like bis-GMA (bisphenol A glycidyl dimethacrylate) and

UDMA (urethane dimethacrylate) or low-molecular-weight substances for improved flowability such as HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate) and TEGDMA (triethylene glycol dimethacrylate) [2, 22, 40].

Several articles have investigated common monomers in orthodontics. Especially BPA (bisphenol A), used as a starter ingredient for bis-GMA or bis-EMA (ethoxylated bisphenol A dimethacrylate), but also others like TEGDMA and UDMA were in the focus of researchers [17, 19, 34, 36, 45, 48].

Since these polymers never reach a full degree of conversion after photo- or self-curing polymerization, residual and leaching monomers from methacrylate-based restorative and orthodontic materials are seen as a result [5, 21, 23]. These substances have been found in different tissues and fluids [3, 4, 35, 37, 46, 54], causing allergic [18, 28], teratogenic [46, 49], cytotoxic [7, 12, 16, 20], mutagenic [14, 25, 41], neurotoxic [61], endocrine effects [38, 57], fertility disorders [29, 59] and DNA damage [47, 60] or epigenetic programming [44]. Furthermore, early exposure to monomers is suspected of causing molar incisor hypomineralization (MIH) and having an impact on the psychosocial health of children [24, 32, 33].

The European Food Safety Authority (EFSA) and the U.S. Food and Drug Administration (FDA) reacted to the scientific findings and set limits to a maximal daily intake of BPA in the past [13]. In 2015, the EFSA lowered the threshold from 50 to 4 µg/kg body weight/day. Since 2011 there has been a ban on BPA in baby bottles in the EU [8]; in

2015 a complete ban on BPA from all food packaging was introduced in France, while other European countries added similar restrictions [6]. However, despite the many studies mentioned above which found local, systemic and synergistic effects of TEGDMA and UDMA, even in low doses, no thresholds exist, yet. Discussions about health threats and environmental issues from polymers are the reason for restrictions and an ongoing controversy. Against this background it is also the responsibility of every orthodontist to use and seek alternatives to minimize potentially hazardous uptake of these substances from orthodontic materials.

In the present study we tested five frequently used acrylic based orthodontic light-curing resins with different indications: BrackFix® (BrackFix; Voco GmbH, Cuxhaven, Germany) and Transbond™ XT (Transbond™ XT; 3M Unitek, Monrovia, CA, USA) to bond metal and ceramic brackets to tooth surfaces, Transbond™ LR (Transbond™ LR; 3M Unitek, Monrovia, CA, USA) for bonding fixed lingual retainers, Transbond™ Plus (Transbond™ Plus; 3M Unitek, Monrovia, CA, USA) a band adhesive and Triad®Gel (Tri-

adGel; DeguDent GmbH, Hanau, Germany) as a multipurpose material.

It was the aim of this in vitro investigation to study leakage of BPA, Bis-GMA, CQ (camphorquinone), HEMA, HQ (hydroquinone), MMA (methyl-methacrylate), TEGDMA, and UDMA using artificial saliva at body temperature as elution medium, analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC).

Materials and methods

The five tested orthodontic materials and their compositions, instructions and test parameters are listed in Table 1.

Polyoxymethylene (POM) rings between two glass microscope slides were used to create ten identical disc-shaped samples (7 mm diameter, 1.5 mm thick, 76.97 mm² exposed surface area, 57.73 mm³ volume) each of BrackFix®, Triad® Gel, Transbond™ XT, Transbond™ LR and Transbond™ Plus.

Table 1 Orthodontic materials and their compositions, instructions and test parameters
Tab. 1 Kieferorthopädische Materialien: Bestandteile, Anwendungshinweise und Prüfparameter

Product and manufacturer	Composition from safety data sheets (if given: CAS No.)	Polymerization instructions	Test parameters
<i>Triad®Gel</i> DeguDent GmbH, Hanau, Ger- many	Urethane dimethacrylate (UDMA) Silicon dioxide Pigments Initiators Stabilizers	30 s in Triad® 2000 Light Curing Unit (Dentsply Interna- tional, York, PA, USA)	Light intensity/time: 1600 mW/cm ² for 30 s Curing light distance: 2 mm Mean sample weight: 0.071 g
<i>Transbond™ Plus</i> 3M Unitek, Monrovia, CA, USA	Silane-treated glass Glycerol 1,3-dimethacrylate (1830-78-0) Citric acid dimethacrylate oligomer Silane-treated silica (248596-91-0) Diphenyliodonium hexafluorophosphate (58109-40-3)	Light intensity/ time: 1600 mW/cm ² for 30 s Curing light dis- tance: 1–2 mm	Light intensity/time: 1600 mW/cm ² for 30 s Curing light distance: 1 mm Mean sample weight: 0.129 g
<i>Transbond™ XT</i> 3M Unitek, Monrovia, CA, USA	Silane-treated quartz (10042-78-6) Bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate (bis-GMA) (1565-94-2) Bisphenol A bis(2-hydroxyethyl ether) dimethacrylate (24448-20-2) Silane-treated silica (68611-44-9) Diphenyliodonium hexafluorophosphate (5810940-3)	Light intensity/ time: 1600 mW/cm ² for 3 s Curing light dis- tance: 2–3 mm	Light intensity/time 1600 mW/cm ² for 3 s Curing light distance: 2 mm Mean sample weight: 0.133 g
<i>Transbond™ LR</i> 3M Unitek, Monrovia, CA, USA	2-Propenoic acid, 2-methyl-, 3-(trimethoxysilyl)propyl ester, reaction products with quartz (100402-78-6) Bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate (bis-GMA) (1565-94-2) Triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA) (109-16-0) Dichlorodimethylsilane reaction product with silica (68611-44-9) Ethyl-4-dimethylaminobenzoate (EDB) (10287-53-3) Diphenyliodonium hexafluorophosphate (58109-40-3)	Light intensity/ time: 1600 mW/cm ² for 10 s Curing light dis- tance: not given	Light intensity/time 1600 mW/cm ² for 10 s Curing light distance: 2 mm Mean sample weight: 0.140 g
<i>BrackFix®</i> VOCO GmbH, Cuxhaven, Germany	Bis-GMA (1565-94-2) Bis-EMA (41637-38-1)	Light intensity/ time: min. 1000 mW/cm ² for 20 s Curing light dis- tance: 1–2 mm	Light intensity/time: 1200 mW/cm ² for 20 s Curing light distance: 1 mm Mean sample weight: 0.135 g

Table 2 HPLC: setup and parameters
Tab. 2 HPLC: Aufbau und Parameter

	Model	Manufacturer
Controller	SCL-10A VP	Shimadzu, Kyoto, Japan
Pump A	LC-10AD VP	Shimadzu, Kyoto, Japan
Pump B	LC-10AD VP	Shimadzu, Kyoto, Japan
Diode array detector	SPD-M10A VP	Shimadzu, Kyoto, Japan
Autosampler	SIL-10A	Shimadzu, Kyoto, Japan
Column oven	CTO-10 AS VP	Shimadzu, Kyoto, Japan
Column	EC 125/2 Nucleosil 100-5 C18 Nautilus	Macherey-Nagel, Düren, Germany
Degasser	Degasys DG-1210	UniFlows, Tokyo, Japan
Software	Class VP 4.7	Shimadzu, Kyoto, Japan
Settings	Mobile phase	C ₂ H ₅ N 90%, aqua dest. 10%
	Detection	200–340 nm
	Flowspeed	0.25 mL/min

HPLC high pressure liquid chromatography

Every material was light-cured with a LED light-curing unit (VALO C0 1516 LED, Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, USA), following the instructions provided by the manufacturers regarding light intensity, wavelength and polymerization time. Individually manufactured polymerization-stands for each material were used to keep the recommended distance from sample to curing light. The light unit was routinely tested by a photometer (Bluephase® Meter II; Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Liechtenstein), the mean output was 1188 mW/cm² (1200 mW/cm² mode) and 1604 mW/cm² (1600 mW/cm² mode), measured through a microscope slide.

Table 3 Monomers used in calibration standards**Tab. 3** Für die Kalibrierungsstandards verwendete Monomere

Substance	Abbreviation	CAS No.	Manufacturer
Hydroquinone	HQ	123-31-9	Sigma-Aldrich ^a
2-Hydroxyethyl methacrylate	HEMA	868-77-9	Sigma-Aldrich ^a
Methyl methacrylate	MMA	80-62-6	Sigma-Aldrich ^a
Camphorquinone	CQ	10373-78-1	Sigma-Aldrich ^a
Triethylene glycol dimethacrylate	TEGDMA	109-16-0	Sigma-Aldrich ^a
Bisphenol A (2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propane, 4,4'-isopropylidenediphenol)	BPA	80-05-7	Sigma-Aldrich ^a
Diurethane dimethacrylate	UDMA	72869-86-4	Sigma-Aldrich ^a
Bisphenol A glycerolate dimethacrylate	Bis-GMA	1565-94-2	Merz Dental ^b

^aSigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA

^bMerz Dental GmbH, Lütjenburg, Germany

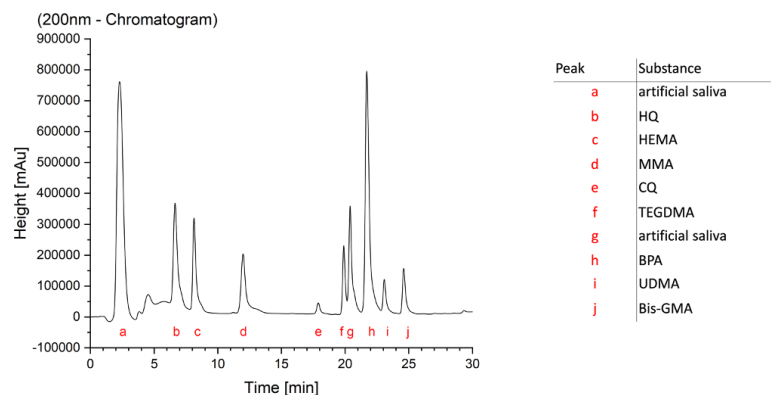
Each sample was weighed and afterwards immersed in new glass sample vials with tetrafluoroethylene-lined caps (20 mL, GL 18, Duran®, Schott AG, Mainz, Germany) to prevent contamination, containing 1.5 mL artificial saliva type Fusayama/Meyer (Pickering Laboratories, Inc., Mountain View, CA, USA). The POM ring was attached to a nylon string (diameter 0.16 mm, folia, Max Bringmann KG, Wendelstein, Germany) allowing the tested materials to move freely in the medium. The glass tubes were placed on an individually manufactured circular tube tray, rotating at 60 rpm by a shaker (3D Sunflower Mini Shaker, BioSan, Riga, Latvia) in an incubator (Heraeus, Hanau, Germany) at +37 °C, simulating intraoral conditions.

In accordance with DIN EN ISO 10993-13, specimens of 1 mL of the test tubes (artificial saliva, POM ring, sample, nylon string) and a control tube (artificial saliva, POM ring, nylon string) were collected 30 min, 3 h, 6 h, 24 h, 48 h, 72 h, 7 days, 14 days, 21 days, 28 days and 35 days after immersion (t1–t11). Each time, 1 mL of fresh artificial saliva was added to the glass tubes afterwards.

The specimens were stored at +4 °C in HPLC vials to prevent contamination or reactions with monomers or other substances. In addition, the experiments were performed in a laboratory protected from UV light. All aliquots were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The setup and settings are listed in Table 2. The monomers and calibration standards in methanol are summarized in Table 3. The detection of the monomers in the specimens was based on the retention time and the spectrum given by the calibration standards and the quantification by the area under the curve (AUC) of each sample and standard. Four monomer-standards were analyzed during each HPLC run. One in artificial saliva and another one in distilled water, each before and after measuring the specimen to identify possible differences in the retention time and peak appearance. To minimize error sources, all procedures and an individual control of every chromatogram were performed by the same investigator (first author), including baseline

Fig. 1 Chromatogram of a monomer standard in artificial saliva with assignment of the peaks. Monomer abbreviations provided in Table 3

Abb. 1 Chromatogramm eines Monomerstandards in künstlichem Speichel mit Zuweisung der Peaks. Abkürzungen für Monomere s. Tab. 3



adaptions, the identification of split peaks, fronting, tailing or other deviations in the chromatograms.

The obtained data for the BPA release from four materials was analyzed with a two-way analysis of variance (ANOVA) to evaluate the impact of time and different materials on the elution process. The *p* value of the interaction analysis has to be considered as exploratory due to the nature of the evaluation.

The following software were used for data processing and visualization: Class VP 4.7 (Shimadzu, Kyoto, Japan), Excel® for Mac 16.23 (Microsoft, Redmond, WA, USA), SPSS® Statistics 26 (IBM, Armonk, NY, USA) and OriginPro 2019 (OriginLab, Northampton, MA, USA).

Results

The final chromatograms made an analysis of the standards, control group and specimens possible (Fig. 1). All five materials released monomers and other not uniquely identifiable substances (Table 4). Samples with a 76.97 mm² surface area and 57.73 mm³ volume were immersed in 1.5 mL. The mean weight of the samples was 0.071 g (Triad® Gel), 0.129 g (Transbond™ Plus), 0.133 g (Transbond™ XT), 0.14 g (Transbond™ LR) and 0.135 g (BrackFix®). The minimum detection threshold for the identification and quantification of peaks in the chromatograms was set to the area under curve (AUC) value of 100,000 in ClassVP 4.7.

It was possible to identify and quantify BPA, UDMA and TEGDMA by their retention time and spectrum (Table 4, Figs. 2, 3, 4, 5, 6 and 7). Other peaks were found, either below the threshold or not matching with monomers used in the standards for calibration.

Triad®Gel eluted UDMA with a cumulative mean of 1682.00 ± 262.07 ppm after 35 days (t0–t11). It is the highest cumulative mean of a substance detected in the study.

The highest elution occurred between t3 and t4 (6–24 h after immersion) with a mean of 229.41 ppm, while the lowest value was observed between 28 and 35 days (t10–t11) with a mean of 99.54 ppm (Fig. 2). No significant amounts of other unknown peaks were found in the chromatograms.

Transbond™ Plus eluted BPA and two not uniquely identified substances. A cumulative mean of 14.44 ± 1.84 ppm BPA after 35 days was detected. A maximum peak with a mean of 9.37 ppm at t1 (after 30 min) and a minimum mean of 0.73 ppm at t11 (Fig. 3). The unidentified peaks showed retention times similar to the retention times in our standards of hydroquinone and camphorquinone. Both, just as BPA, are not mentioned in the safety data sheets provided by the manufacturer.

Transbond™ XT eluted a cumulative mean of 64.83 ± 5.58 ppm BPA after 35 days, a maximum mean of 9.37 ppm at t4, a minimum (3.91 ppm) at t1 (Fig. 4). It is the highest cumulative mean of BPA from all the tested materials. Smaller peaks of bis-GMA below the threshold were also identified.

Transbond™ LR eluted TEGDMA and BPA. TEGDMA eluted the second highest cumulative mean of the study with 688.61 ± 185.40 ppm after 35 days, an elution maximum with a mean of 208.87 after 30 min (t1) and a minimum of 8.32 ppm at t11 (Fig. 5). The cumulative mean of BPA was 18.46 ± 9.49 ppm after the 35 days, the maximum elution was measured at t1 with 2.45 ppm and a minimum of 1.09 ppm at t10 (Fig. 6).

BrackFix® eluted 19.44 ± 1.91 ppm of BPA in 35 days. The maximum mean was at t4 with 2.74 ppm, the minimum at t2 was 1.38 ppm (Fig. 7). Smaller peaks of bis-GMA under the set threshold were also identified.

For every tested material and identified substance, the average amount of the eluted substances in ppm per hour showed a maximum for the values of t1 (0–30 min) and a minimum at t11 (28–35 days interval; Figs. 8, 9 and 10).

Table 4 Results: Eluted substances from each material (ppm [$\mu\text{g}/1\text{ g}$ material]) from 10–11 and cumulated values after 35 days (d)
Tab. 4 Ergebnisse: Aus jedem Material eluierte Substanzen (ppm [$\mu\text{g}/1\text{ g}$ Material]) von 10–11 und kumulierte Mengen nach 35 Tagen

Material	t1 (30 min)			t2 (3 h)			t3 (6 h)			t4 (24 h)			t5 (48 h)			t6 (72 h)		
	Mean	Median \pm SD	Substances	Mean	Median \pm SD	Substances	Mean	Median \pm SD	Substances	Mean	Median \pm SD	Substances	Mean	Median \pm SD	Substances	Mean	Median \pm SD	Substances
Triad®Gel	151.19	144.42	UDMA	189.08	178.60	43.83	146.28	147.24	34.04	229.41	227.93	30.51	169.19	171.11	44.29	152.23	148.60	36.81
Transbond™ Plus	3.29	3.42	BPA	2.07	2.07	0.40	1.09	1.05	0.36	1.75	1.82	0.43	1.09	1.15	0.60	1.23	1.10	0.54
Transbond™ XT	3.91	3.68	BPA	6.19	6.25	1.02	4.90	5.06	0.84	9.37	9.08	1.31	7.10	6.94	1.00	5.83	5.71	0.49
Transbond™ LR	208.87	201.57	TEGDMA	139.10	120.93	71.12	62.49	59.94	21.76	111.52	110.80	28.79	39.57	45.43	21.51	23.76	26.72	5.32
BPA	2.45	2.94	BPA	2.19	2.70	1.22	1.60	1.75	0.97	2.38	3.06	1.30	1.64	1.84	0.91	1.25	1.51	0.72
BrackFix® Material	1.51	1.39	BPA	1.38	1.44	0.27	1.64	1.56	0.50	2.74	2.78	0.67	2.08	2.14	0.42	1.54	1.59	0.44
Substances	t7 (7 d)			t8 (14 d)			t9 (21 d)			t10 (28 d)			t11 (35 d)			cumulative (11–11)		
Triad®Gel	169.87	185.24	UDMA	141.76	148.16	41.57	129.47	129.65	36.85	110.00	114.48	22.34	99.54	101.96	20.35	1682.00	1764.07	262.07
Transbond™ Plus	2.03	2.36	BPA	1.10	1.05	0.23	1.07	0.94	0.47	0.79	0.83	0.26	0.73	0.80	0.23	16.04	15.69	1.84
Transbond™ XT	7.95	8.48	BPA	5.91	6.05	0.59	5.30	5.46	1.49	4.22	4.12	0.65	4.14	4.53	0.97	64.83	66.56	5.58
Transbond™ LR	37.45	32.32	TEGDMA	28.66	30.85	11.66	16.99	14.40	8.50	11.88	11.49	5.51	8.32	8.06	3.43	688.61	639.85	185.40
BPA	1.75	1.90	BPA	1.53	1.75	0.80	1.49	1.79	0.81	1.09	1.38	0.58	1.10	1.31	0.59	18.46	23.27	9.49
BrackFix® Material	1.93	1.99	BPA	1.87	1.81	0.57	1.55	1.57	0.36	1.60	1.66	0.43	1.57	1.60	0.25	19.44	19.72	1.91

SD standard deviation, BPA bisphenol A, TEGDMA triethylene glycol dimethacrylate, UDMA urethane dimethacrylate

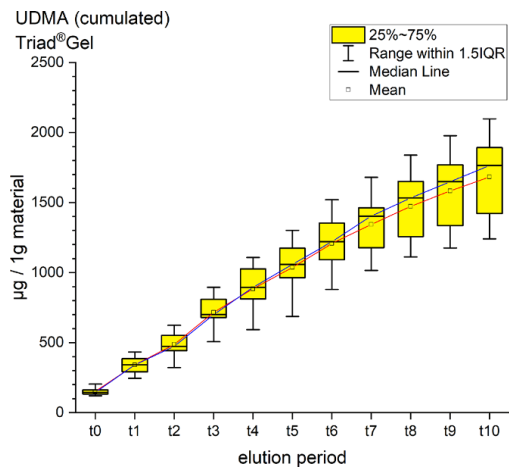


Fig. 2 Cumulated quantity of eluted urethane dimethacrylate (UDMA [μg]) from 1 g Triad®Gel. The red line indicates the progression of the mean values; the blue line of the median values of each measurement point from t0–t11. IQR interquartile range

Abb. 2 Kumulierte Menge von eluiertem UDMA (Urethan-Dimethacrylat [μg]) aus 1 g Triad®Gel. Die rote Kurve stellt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte dar, die blaue Kurve die der Mediane über den Untersuchungszeitraum (t0–t11). IQR Interquartilbereich

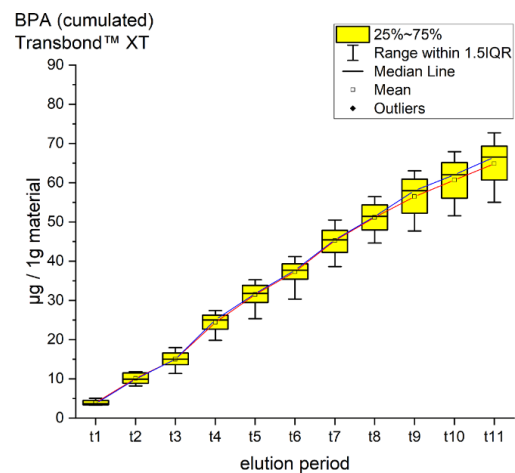


Fig. 4 Cumulated quantity of eluted bisphenol A (BPA; [μg]) from 1 g Transbond™ XT. The red line indicates the progression of the mean values from t0–t11; the blue line of the median. IQR interquartile range

Abb. 4 Kumulierte Menge von eluiertem BPA [μg] aus 1 g Transbond™ XT. Die rote Kurve stellt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte über den Untersuchungszeitraum (t0–t11) dar, die blaue Kurve die der Mediane. IQR Interquartilbereich

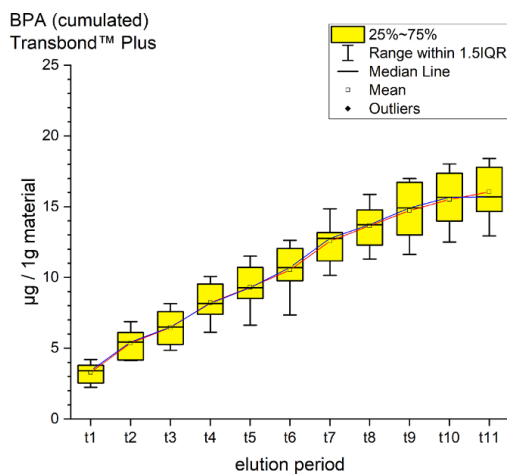


Fig. 3 Cumulated quantity of eluted bisphenol A (BPA; [μg]) from 1 g Transbond™ Plus. The red line indicates the progression of the mean values from t0–t11; the blue line of the median. IQR interquartile range

Abb. 3 Kumulierte Menge von eluiertem BPA (Bisphenol A; [μg]) aus 1 g Transbond™ Plus. Die rote Kurve stellt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte über den Untersuchungszeitraum (t0–t11) dar, die blaue Kurve die der Mediane. IQR Interquartilbereich

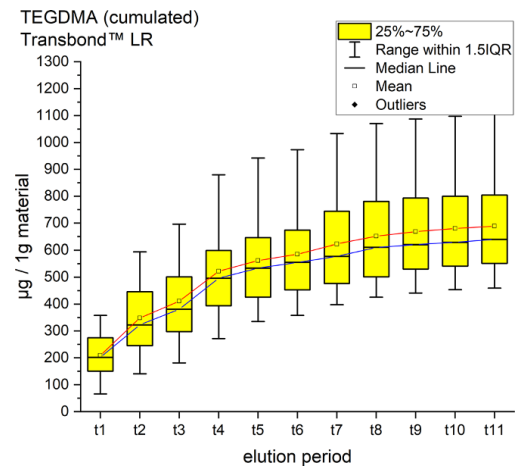


Fig. 5 Cumulated quantity of eluted triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA; [μg]) from 1 g Transbond™ LR. The red line indicates the progression of the mean values from t0–t11; the blue line of the median. IQR interquartile range

Abb. 5 Kumulierte Menge von eluiertem TEGDMA (Triethylenglykol-Dimethacrylat; [μg]) aus 1 g Transbond™ LR. Die rote Kurve stellt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte über den Untersuchungszeitraum (t0–t11) dar, die blaue Kurve die der Mediane. IQR Interquartilbereich

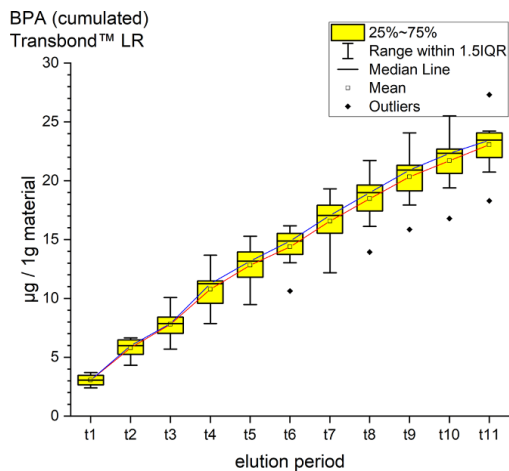


Fig. 6 Cumulated quantity of eluted bisphenol A (BPA; [μg]) from 1 g Transbond™ LR. The red line represents the progression of the mean values from t0–t11, the blue line of the median. IQR interquartile range
Abb. 6 Kumulierte Menge von eluiertem BPA (Bisphenol A; [μg]) aus 1 g Transbond™ LR. Die rote Kurve stellt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte über den Untersuchungszeitraum (t0–t11) dar, die blaue Kurve die der Mediane. IQR Interquartilbereich

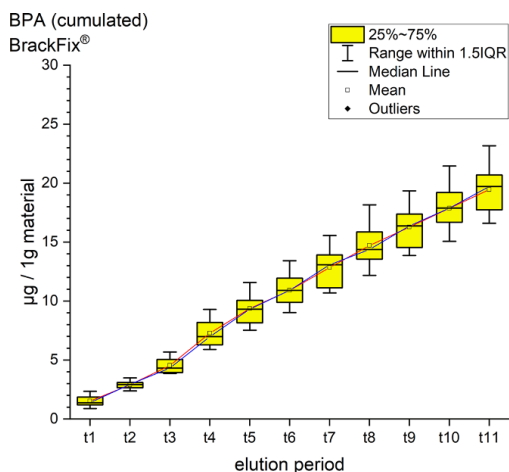


Fig. 7 Cumulated quantity of eluted bisphenol A (BPA; [μg]) from 1 g BrackFix®. The red line represents the progression of the mean values from t0–t11, the blue line of the median. IQR interquartile range
Abb. 7 Kumulierte Menge von eluiertem BPA (Bisphenol A; [μg]) aus 1 g BrackFix®. Die rote Kurve stellt die Entwicklung der errechneten Mittelwerte über den Untersuchungszeitraum (t0–t11) dar, die blaue Kurve die der Mediane. IQR Interquartilbereich

For BPA the time-dependent curves (Fig. 8) of the four materials were different (interaction p value from 2-way ANOVA <0.001). Where Transbond™ Plus, Transbond™ LR and BrackFix® showed very similar low elution rates (maximum cumulated mean elution after 35 days (t11) from 14.44 ppm to 19.44 ppm, see above), Transbond™ XT showed a substantially higher elution (64.83 ppm). The cumulated elution of BPA from Transbond™ XT after 35 days (t11) was approximately four times higher than from the other three materials.

Discussion

This HPLC study identified and quantified the release of three monomers (BPA, UDMA and TEGDMA) from five different orthodontic materials (BrackFix®, Triad® Gel, Transbond™ XT, Transbond™ LR, Transbond™ Plus) eluted in artificial saliva over 5 weeks.

Various substances listed in the safety data sheets (SDS) and also not uniquely identified or not mentioned eluted substances have been detected. Every identified substance, besides BPA leaching from Transbond™ Plus, is listed in the SDS of the tested materials. The eluted and detected BPA, (or possible BPA derivatives as persecutors of bis-GMA and bis-EMA), is possibly a degradation product of larger substances, or its match in composition is too small to be mentioned in the SDS [27, 30]. Other studies also found substances not mentioned in the SDS [1]. Monomers of smaller molecular weight, such as TEGDMA or BPA are more likely and faster to leach from dental materials than monomers of higher molecular weight (e.g., bis-GMA, Figs. 8, 9 and 10; [52]). In addition, smaller peaks below the threshold with the same retention time as bis-GMA appeared in the chromatograms of Transbond™ Plus and BrackFix® aliquots.

Other substances were released but could not be identified. The identity of those can be assumed by comparing their characteristics in the chromatograms with other monomers used in the analyzed standards. For Transbond™ Plus, besides low concentrations of BPA, two unidentified peaks can be seen. The characteristics of the peaks do show a similar, but not the exact and constant retention time as hydroquinone (HQ) and camphorquinone (CQ) used in the standards. Furthermore, the spectrum of the peaks differs as well to HQ and CQ. The additional substances (HQ and CQ) and others in the standards are often found in orthodontic and dental resins. They are for example used as photoinitiators, inhibitors and stabilizers or as residues of the raw materials. Even if not mentioned in the SDS, especially gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) studies have shown a release of CQ [1, 39, 50]. The SDS of Transbond™ Plus gives information about two substances

Fig. 8 Comparison of the cumulated quantities of eluted bisphenol A (BPA, [μg]) from 1 g Transbond™ Plus, Transbond™ XT, Transbond™ LR, BrackFix® over 35 days

Abb. 8 Gegenüberstellung der kumulierten Mengen von eluiertem BPA (Bisphenol A; [μg]) aus 1 g Transbond™ Plus, Transbond™ XT, Transbond™ LR, BrackFix® im zeitlichen Verlauf über 35 Tage

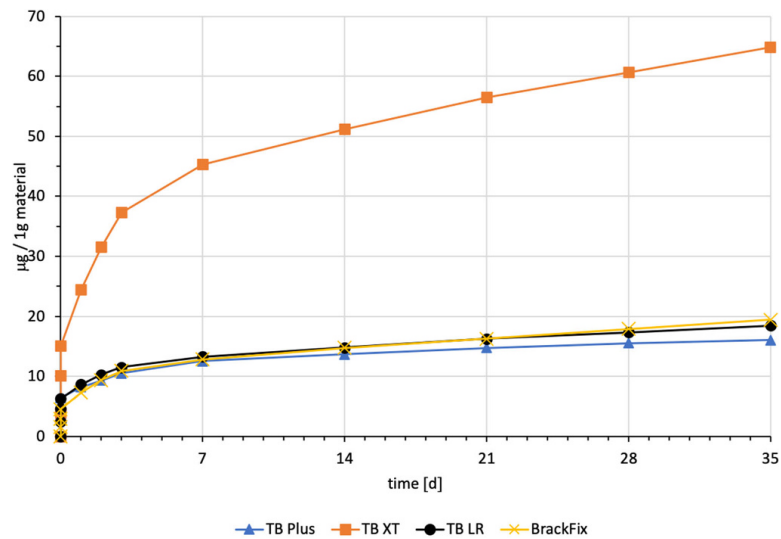
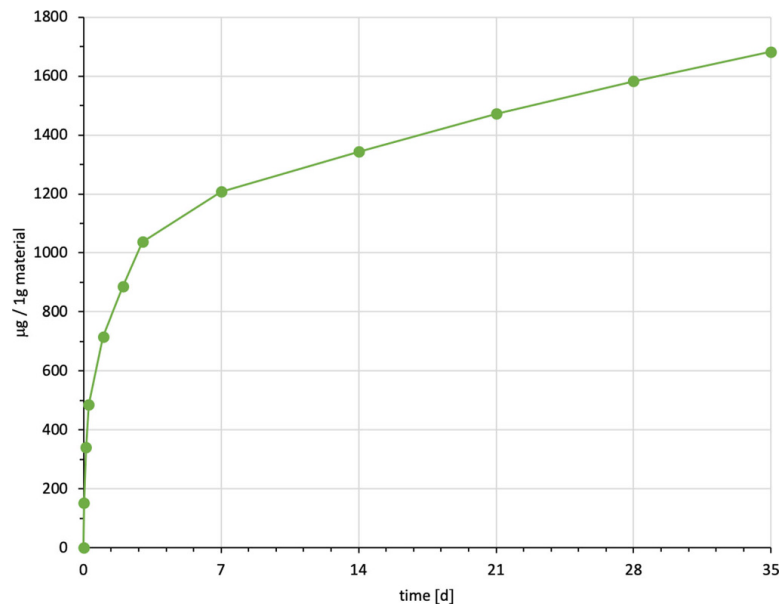


Fig. 9 Cumulated quantity (mean) of eluted urethane dimethacrylate (UDMA; [μg]) from 1 g Triad®Gel over 35 days (d)

Abb. 9 Kumulierte Mengen (Mittelwerte) von eluiertem UDMA (Urethan-Dimethacrylat; [μg]) aus 1 g Triad®Gel im zeitlichen Verlauf über 35 Tage



(glycerol 1,3-dimethacrylate, diphenyliodonium hexafluorophosphate) not used in the standard. The two substances are suspected of causing the unidentified peaks in the chromatograms of Transbond™ Plus aliquots.

Comparing the materials and the measured amounts of the identified substances to each other, Triad®Gel eluted the most with a mean of 1682 ppm of UDMA after 35 days.

Followed by Transbond™ LR with a cumulative mean of 688.61 ppm TEGDMA. For both substances, there are no limits published for a maximum daily intake by authorities.

BPA was found to eluate from four materials. The highest cumulative mean showed Transbond™ XT (64.83 ppm) after 35 days, followed by BrackFix® (19.44 ppm), Transbond™ LR (18.46 ppm) and Transbond™ Plus (14.44 ppm).

Focusing on the elution process of BPA over time, three materials (Transbond™ LR, Transbond™ Plus, BrackFix®) showed similar characteristics in the graph. Only Transbond™ XT showed a major deviation compared to the others with higher concentrations and an extended elution process (Fig. 8). The already mentioned degradation process of larger molecular structures with time, different compositions of the materials or the unlikely case of another unknown substance with similar characteristics in the HPLC chromatogram leading to a larger peak with the retention time of BPA could explain this observation.

When it comes to the range of indications of the materials, both Transbond™ XT and BrackFix® are used for bracket bonding. Based on the results of our study BrackFix® should be preferred, provided that other material characteristics like sufficient tensile and shear strength are similar.

Comparing the results with other studies, it is important to point out the different approaches, which make comparisons difficult. The elution of material samples in artificial saliva at +37 °C aims at simulating intraoral conditions. However, the experimental setup still does not include possible impacts of bacterial and salivary enzymes in the human oral flora, pH and thermal changes [30]. Kloukos et al. [26] compared other studies in the field of interest, with the result that most authors used different methods. Different analyzing methods like liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC/MS) or gas chromatography (GC) coupled with MS show major differences in the results of the studies. Different elution media, such as water, ethanol or combinations are common. Ethanol is known to accelerate the aging of polymers [10], but it is questionable whether ethanol creates a comparable aging process as if the materials are immersed in saliva. Regarding the period of elution, we tried to create realistic conditions by expanding our study to a time period of 5 weeks to extend the test period. The size, surface and weight of the specimens in perspective with the immersion medium and the time of elution are also factors that have to be taken into consideration when comparing different studies. In vivo, microfractures at the peripheral margins of orthodontic brackets and bands or within adhesives and a lower degree of conversion of the resins under brackets and bands could be another source of higher leakage of monomers. On the other side, the exposed surface of the resins to the oral cavity is most likely smaller than in our study, since resins for bracket bonding (BrackFix®, Transbond™ XT) or cementing bands (Transbond™ Plus) are mostly covered by enamel, bands or bracket bases [10]. According to a review by Van Landuyt et al. the release of monomers depends on the exposed surface of samples, but there is no significant correlation with the volume [53].

Thus, it is difficult to determine the actual time of exposure, quantity, volume and surface area of the different materials used in vivo. Different numbers of teeth per patient, various appliances, the modification of these, the process of band or bracket bonding, re- and debonding or the removal of excess material are just a few potential variables. It is reasonable to conclude that the tested amount of the different materials in this study are far lower than the actual amount emerging during orthodontic treatment.

In general, we confirm the statement of most HPLC studies testing Transbond™ XT leakage of BPA [43, 51]. Only Malkiewicz et al. diverged from our study stating that there is no release of BPA from Transbond™ XT [30]. GC/MS studies support overall the results with the elution of BPA from Transbond™ XT [11, 27]. In addition, Transbond™ LR also eluted TEGDMA in our setup which is the first HPLC study showing that effect [39].

The applied method is an in vitro model attempting to replicate oral conditions based on the recommendations for a standardization by Kloukos et al. [26]. In combination with HPLC, this is a valid and simple method to identify and quantify different monomers released from orthodontic resins [51]. However, HPLC coupled with a mass spectrometry (MS) or a pre-analytical purification of aliquots might have identified further substances [31, 42]. However, adding more substances to the standards also expands the possibility to identify additional substances with the existing method. We analyzed new and previously tested materials with this method and compared our results with other studies [26].

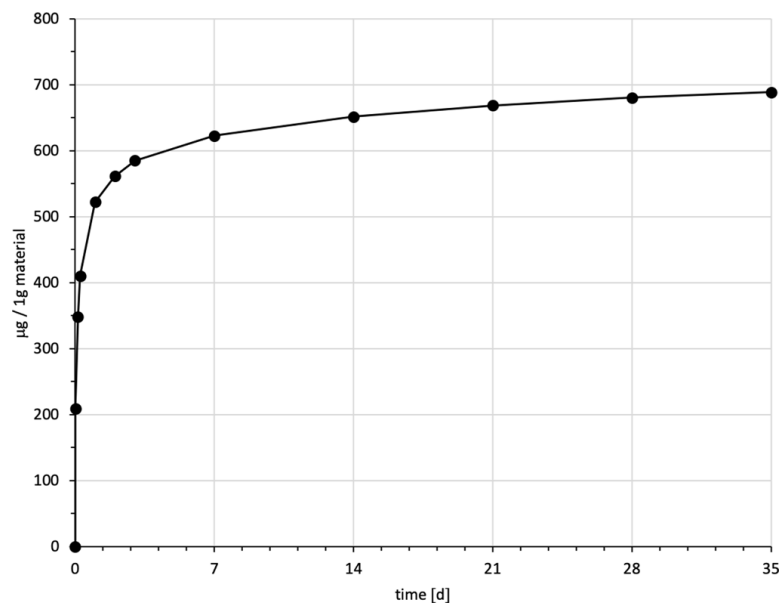
Deviations in the appearance of the peaks in the chromatograms were found, resulting in variances of the area under the curve values and the relating calculated concentration of leached monomers in the aliquots. These anomalies might be the result of a pollution of the HPLC columns after several analytical runs, leading to split peaks, peak covering, fronting, broadening or tailing [58].

Possible disturbing factors which lead to the pollution of the columns are different ingredients of the artificial saliva like salts, unintentionally added smaller particles from the used materials or laboratory devices in the aliquots or debris from HPLC tubes. Major improvements in the appearance of the peaks in the chromatogram, such as less fronting or tailing and less split peaks or other signs for column pollution were achieved by the replacement of pre- and main columns during our research. In this study, the precolumns have been replaced three times, the main column once. For perfect conditions, the HPLC columns should be replaced, calibrated with standards and the system rinsed and purged regularly. Aliquots can be purified for even better conditions.

Additional disturbing factors which may lead to a wider spread of the results should be discussed and eliminated.

Fig. 10 Cumulated quantity (mean) of eluted triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA; [μg]) from 1 g Transbond™ LR over 35 days (d)

Abb. 10 Kumulierte Mengen (Mittelwerte) von eluiertem TEGDMA (Triethylenglykol-Dimethacrylat; [μg]) aus 1 g Transbond™ LR im zeitlichen Verlauf über 35 Tage



For example, to prevent thermal changes, placing the HPLC in a room with a constant room temperature is recommended. In addition, reactions between the substances in the aliquots, due to ambient light or a different degree of conversion in the polymerization step as a result of differences in the curing light system, distance and time are possible [51].

To minimize sources of error, we standardized the process *inter alia* by using just one fully charged light-emitting diode device (LED) for every material, which is common in daily dental work and superior to a halogen light-curing unit [43]. Custom-made polymerization stands to keep the same distance were used. The experiments were performed in a laboratory protected from direct UV light. The time between pipetting aliquots and HPLC run was held constant throughout the study.

Regarding the medical point of view and potential health threats, the *in vitro* detected concentrations of BPA from the different materials in the aliquots of artificial saliva remained all below the threshold of $4\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight/day set by the EFSA in 2015 [8].

As a general premise it is important to minimize the exposure to any monomers. Any sources like food, packaging, daily polymers, paints, coatings, electric components and especially medical devices and appliances should be seen as part of the bigger picture [27]. Another reason for a potential higher exposure to monomers while undergoing orthodontic treatment is that volatile substances are not measured by this method. Possibilities of systematic intake

other than through the oral environment include the respiratory and gastrointestinal tract or by physical contact [21]. Several *in vitro* and *in vivo* studies confirm our results that the concentrations of the eluted substance BPA are highest right after placement in the oral cavity or during the initial elution period [15, 37, 39]. In our study, every material and eluted substance showed the same effect: the highest concentrations were measured in the first period after bonding and the amount of eluted substances decreased with time (Figs. 8, 9 and 10). Thus, according to the eluted concentrations, a crucial period of time are the first 6 h (t_0 – t_3) for substances with a low-molecular weight (BPA and TEGDMA, Figs. 8 and 10) and 72 h (t_0 – t_6) for substances with a high-molecular weight (UDMA, Fig. 9). The lowest concentrations for every material were measured in the last period (t_{11}). These characteristics are of major importance for the management of exposure during and right after the bonding and debonding process.

Teenagers are the major recipients of orthodontic treatment. This age is characterized by growth with several hormonal changes where endocrine-active substances like BPA might have an impact on development [27].

On the other hand, long-term effects for dental professionals should also be closely monitored to reduce potential harmful effects to their health. Further attempts to reduce monomer leakage and exposure to patients and dental professionals should be made. Common recommendations suggest dental dams while bonding, which is not practicable or can only be performed at disproportionate expense. Another

suggestion is removing any excess adhesive before curing, generally to minimize the amount of material. The distance from material to the light-cure tip should be minimized to reach the highest degree of conversion as possible. The use of spray water and rinsing of the patients' oral cavity multiple times with warm water after bonding and debonding is advisable. Also, suction devices should always be used to minimize aerosol while bonding and debonding. The use of alternative materials not containing any leaking monomers linked to health hazards, equipment for self-protection such as glasses, gloves and face masks are indicated [9, 26, 27].

In addition to existing regulations and recommendations, thresholds for other substances such as TEGDMA and UDMA should be considered by authorities. The impact of cumulative or low-dose effects over a long period should not be underestimated and should be taken into consideration [55, 56]. This will be of benefit for health providers, patients and the environment exposed to monomers.

Funding Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

Declarations

Conflict of interest B. J. Kux, L. M. Bacigalupo, A. Scriba, M. Emmrich and P.-G. Jost-Brinkmann declare that they have no competing interests.

Ethical standards For this article no studies with human participants or animals were performed by any of the authors. All studies performed were in accordance with the ethical standards indicated in each case.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- Bationo R, Jordana F, Boileau MJ, Colat-Parros J (2016) Release of monomers from orthodontic adhesives. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 150:491–498. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2016.02.027>
- Bowen RL (1963) Properties of a silica-reinforced polymer for dental restorations. *J Am Dent Assoc* 66:57–64
- Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL (2008) Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003–2004. *Environ Health Perspect* 116:39–44. <https://doi.org/10.1289/ehp.10753>
- Chen D, Kannan K, Tan H, Zheng Z, Feng YL, Wu Y, Widelka M (2016) Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity—A Review. *Environ Sci Technol* 50:5438–5453. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05387>
- Chung KH, Greener EH (1990) Correlation between degree of conversion, filler concentration and mechanical properties of posterior composite resins. *J Oral Rehabil* 17:487–494
- Cwiek-Ludwicka K (2015) Bisphenol A (BPA) in food contact materials—new scientific opinion from EFSA regarding public health risk. *Rocz Panstw Zakl Hig* 66:299–307
- Durner J, Wellner P, Hickel R, Reichl FX (2012) Synergistic interaction caused to human gingival fibroblasts from dental monomers. *Dent Mater* 28:818–823. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2012.04.031>
- EFSA (2017) Bisphenol A. (European Food Safety Authority). <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol>. Accessed 19 Feb 2019
- Eliades T (2017) Bisphenol A and orthodontics: An update of evidence-based measures to minimize exposure for the orthodontic team and patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 152:435–441. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2017.08.004>
- Eliades T, Hiskia A, Eliades G, Athanasiou AE (2007) Assessment of bisphenol-A release from orthodontic adhesives. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 131:72–75. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2006.08.013>
- Eliades T, Voutsas D, Sifakakis I, Makou M, Katsaros C (2011) Release of bisphenol-A from a light-cured adhesive bonded to lingual fixed retainers. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 139:192–195. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2009.12.026>
- Emmler J, Seiss M, Kreppel H, Reichl FX, Hickel R, Kehe K (2008) Cytotoxicity of the dental composite component TEGDMA and selected metabolic by-products in human pulmonary cells. *Dent Mater* 24:1670–1675. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2008.04.001>
- FDA (2018) Bisphenol A (BPA): use in food contact application. American Food and Drug Administration. <http://www.fda.gov/newsevents/publichealthfocus/ucm064437.htm#current>. Accessed Feb. 19 2019
- Ferreira LL, Couto R, Oliveira PJ (2015) Bisphenol A as epigenetic modulator: setting the stage for carcinogenesis? *Eur J Clin Invest* 45 Suppl 1:32–36. <https://doi.org/10.1111/eci.12362>
- Fung EY, Ewoldsen NO, St Germain HA, Jr., Marx DB, Miaw CL, Siew C, Chou HN, Gruninger SE, Meyer DM (2000) Pharmacokinetics of bisphenol A released from a dental sealant. *J Am Dent Assoc* 131:51–58. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2000.0019>
- Geurtsen W, Leyhausen G (2001) Chemical-Biological Interactions of the resin monomer triethyleneglycol-dimethacrylate (TEGDMA). *J Dent Res* 80:2046–2050. <https://doi.org/10.1177/00220345010800120401>
- Goldberg M (2008) In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. *Clin Oral Investig* 12:1–8. <https://doi.org/10.1007/s00784-007-0162-8>
- Goon AT, Isaksson M, Zimerson E, Goh CL, Bruze M (2006) Contact allergy to (meth)acrylates in the dental series in southern Sweden: simultaneous positive patch test reaction patterns and possible screening allergens. *Contact Derm* 55:219–226. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.2006.00922.x>
- Gosavi SS, Gosavi SY, Alla RK (2010) Local and systemic effects of unpolymerised monomers. *Dent Res J (isfahan)* 7:82–87
- Gupta SK, Saxena P, Pant VA, Pant AB (2012) Release and toxicity of dental resin composite. *Toxicol Int* 19:225–234. <https://doi.org/10.4103/0971-6580.103652>
- Hahladakis JN, Velis CA, Weber R, Iacovidou E, Purnell P (2018) An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *J Hazard Mater* 344:179–199. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.10.014>
- Hervas-Garcia A, Martinez-Lozano MA, Cabanes-Vila J, Barjau-Escribano A, Fos-Galve P (2006) Composite resins. A review of the

- materials and clinical indications. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 11:E215–220
23. Howe SR, Borodinsky L (1998) Potential exposure to bisphenol A from food-contact use of polycarbonate resins. *Food Addit Contam* 15:370–375. <https://doi.org/10.1080/02652039809374653>
 24. Jedeon K, Liodice S, Marciano C, Vinel A, Canivenc Lavier MC, Berdal A, Babajko S (2014) Estrogen and bisphenol A affect male rat enamel formation and promote ameloblast proliferation. *Endocrinology* 155:3365–3375. <https://doi.org/10.1210/en.2013-2161>
 25. Kleinsasser NH, Schmid K, Sassen AW, Harreus UA, Staudenmaier R, Folwaczny M, Glas J, Reichl FX (2006) Cytotoxic and genotoxic effects of resin monomers in human salivary gland tissue and lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (Comet) assay. *Biomaterials* 27:1762–1770. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.09.023>
 26. Kloukos D, Pandis N, Eliades T (2013) Bisphenol-A and residual monomer leaching from orthodontic adhesive resins and polycarbonate brackets: a systematic review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 143:S104–112
 27. Kotyk MW, Wiltshire WA (2014) An investigation into bisphenol-A leaching from orthodontic materials. *Angle Orthod* 84:516–520. <https://doi.org/10.2319/081413-600.1>
 28. Lindstrom M, Alanko K, Keskinen H, Kanerva L (2002) Dentist's occupational asthma, rhinoconjunctivitis, and allergic contact dermatitis from methacrylates. *Allergy* 57:543–545
 29. Liu X, Miao M, Zhou Z, Gao E, Chen J, Wang J, Sun F, Yuan W, Li DK (2015) Exposure to bisphenol-A and reproductive hormones among male adults. *Environ Toxicol Pharmacol* 39:934–941. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.03.007>
 30. Malkiewicz K, Turlo J, Marciniuk-Kluska A, Grzech-Lesniak K, Gasior M, Kluska M (2015) Release of bisphenol A and its derivatives from orthodontic adhesive systems available on the European market as a potential health risk factor. *Ann Agric Environ Med* 22:172–177. <https://doi.org/10.5604/12321966.1141390>
 31. Manoj MK, Ramakrishnan R, Babjee S, Nasim R (2018) High-performance liquid chromatography analysis of salivary bisphenol A levels from light-cured and chemically cured orthodontic adhesives. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 154:803–808. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2018.02.008>
 32. Maserejian NN, Shrader P, Trachtenberg FL, Hauser R, Bellinger DC, Tavares M (2014) Dental sealants and flowable composite restorations and psychosocial, neuropsychological, and physical development in children. *Pediatr Dent* 36:68–75
 33. Maserejian NN, Trachtenberg FL, Hauser R, McKinlay S, Shrader P, Tavares M, Bellinger DC (2012) Dental composite restorations and psychosocial function in children. *Pediatrics* 130:e328–338. <https://doi.org/10.1542/peds.2011-3374>
 34. Michalowicz J (2014) Bisphenol A—sources, toxicity and biotransformation. *Environ Toxicol Pharmacol* 37:738–758. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.02.003>
 35. Mielke H, Gundert-Remy U (2009) Bisphenol A levels in blood depend on age and exposure. *Toxicol Lett* 190:32–40. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.06.861>
 36. Minguez N, Ellacuria J, Soler JI, Triana R, Ibaseta G (2003) Advances in the history of composite resins. *J Hist Dent* 51:103–105
 37. Moreira MR, Matos LG, de Souza ID, Brigante TA, Queiroz ME, Romano FL, Nelson-Filho P, Matsumoto MA (2017) Bisphenol A release from orthodontic adhesives measured in vitro and in vivo with gas chromatography. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 151:477–483. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2016.07.019>
 38. Nah WH, Park MJ, Gye MC (2011) Effects of early prepubertal exposure to bisphenol A on the onset of puberty, ovarian weights, and estrous cycle in female mice. *Clin Exp Reprod Med* 38:75–81. <https://doi.org/10.5653/cerm.2011.38.2.75>
 39. Pelourde C, Bationo R, Boileau MJ, Colat-Parros J, Jordana F (2018) Monomer release from orthodontic retentions: An in vitro study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 153:248–254. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2017.06.021>
 40. Pfeifer CS (2017) Polymer-Based Direct Filling Materials. *Dent Clin North Am* 61:733–750. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2017.06.002>
 41. Prins GS, Hu WY, Xie L, Shi GB, Hu DP, Birch L, Bosland MC (2018) Evaluation of Bisphenol A (BPA) Exposures on Prostate Stem Cell Homeostasis and Prostate Cancer Risk in the NCTR-Sprague-Dawley Rat: An NIEHS/FDA CLARITY-BPA Consortium Study. *Environ Health Perspect* 126:117001. <https://doi.org/10.1289/EHP3953>
 42. Pulgar R, Olea-Serrano MF, Novillo-Fertrell A, Rivas A, Pazos P, Pedraza V, Navajas JM, Olea N (2000) Determination of bisphenol A and related aromatic compounds released from bis-GMA-based composites and sealants by high performance liquid chromatography. *Environ Health Perspect* 108:21–27. <https://doi.org/10.1289/ehp.0010821>
 43. Purushothaman D, Kailasam V, Chitharanjan AB (2015) Bisphenol A release from orthodontic adhesives and its correlation with the degree of conversion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 147:29–36. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2014.09.013>
 44. Rezg R, El-Fazaa S, Gharbi N, Mornagui B (2014) Bisphenol A and human chronic diseases: current evidences, possible mechanisms, and future perspectives. *Environ Int* 64:83–90. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.12.007>
 45. Rochester JR (2013) Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reprod Toxicol* 42:132–155. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008>
 46. Schonfelder G, Wittfoht W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I (2002) Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environ Health Perspect* 110:A703–707. <https://doi.org/10.1289/ehp.110-1241091>
 47. Schweikl H, Schmalz G, Spruss T (2001) The induction of micronuclei in vitro by unpolymerized resin monomers. *J Dent Res* 80:1615–1620. <https://doi.org/10.1177/00220345010800070401>
 48. Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G (2006) Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *J Dent Res* 85:870–877. <https://doi.org/10.1177/154405910608501001>
 49. Schwengberg S, Bohlen H, Kleinsasser N, Kehe K, Seiss M, Walther UI, Hickel R, Reichl FX (2005) In vitro embryotoxicity assessment with dental restorative materials. *J Dent* 33:49–55. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2004.08.001>
 50. Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtsen W (1998) Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *J Dent* 26:137–145
 51. Sunitha C, Kailasam V, Padmanabhan S, Chitharanjan AB (2011) Bisphenol A release from an orthodontic adhesive and its correlation with the degree of conversion on varying light-curing tip distances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 140:239–244. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2010.02.037>
 52. Tanaka K, Taira M, Shintani H, Wakasa K, Yamaki M (1991) Residual monomers (TEGDMA and Bis-GMA) of a set visible-light-cured dental composite resin when immersed in water. *J Oral Rehabil* 18:353–362
 53. Van Landuyt KL, Nawrot T, Geebelen B, De Munck J, Snauwaert J, Yoshihara K, Scheers H, Godderis L, Hoet P, Van Meerbeek B (2011) How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dent Mater* 27:723–747. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2011.05.001>
 54. Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgarten FJ, Schoenfelder G (2010) Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol

- A. *Environ Health Perspect* 118:1055–1070. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901716>
55. Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR, Jr., Lee DH, Shioda T, Soto AM, vom Saal FS, Welshons WV, Zoeller RT, Myers JP (2012) Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocr Rev* 33:378–455. <https://doi.org/10.1210/er.2011-1050>
56. vom Saal FS, Akingbemi BT, Belcher SM, Birnbaum LS, Crain DA, Eriksen M, Farabollini F, Guillette LJ, Jr., Hauser R, Heindel JJ, Ho SM, Hunt PA, Iguchi T, Jobling S, Kanno J, Keri RA, Knudsen KE, Laufer H, LeBlanc GA, Marcus M, McLachlan JA, Myers JP, Nadal A, Newbold RR, Olea N, Prins GS, Richter CA, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM, Talsness CE, Vandenberg JG, Vandenberg LN, Walser-Kuntz DR, Watson CS, Welshons WV, Wetherill Y, Zoeller RT (2007) Chapel Hill bisphenol A expert panel consensus statement: integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure. *Reprod Toxicol* 24:131–138. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.07.005>
57. Vom Saal FS, Nagel SC, Coe BL, Angle BM, Taylor JA (2012) The estrogenic endocrine disrupting chemical bisphenol A (BPA) and obesity. *Mol Cell Endocrinol* 354:74–84. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.01.001>
58. Williams S (2004) Ghost peaks in reversed-phase gradient HPLC: a review and update. *J Chromatogr A* 1052:1–11
59. Yang X, Liu Y, Li J, Chen M, Peng D, Liang Y, Song M, Zhang J, Jiang G (2016) Exposure to Bisphenol AF disrupts sex hormone levels and vitellogenin expression in zebrafish. *Environ Toxicol* 31:285–294. <https://doi.org/10.1002/tox.22043>
60. Yang Y, Reichl FX, Shi J, He X, Hickel R, Hogg C (2018) Cytotoxicity and DNA double-strand breaks in human gingival fibroblasts exposed to eluates of dental composites. *Dent Mater* 34:201–208. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.10.002>
61. Zhou Y, Wang Z, Xia M, Zhuang S, Gong X, Pan J, Li C, Fan R, Pang Q, Lu S (2017) Neurotoxicity of low bisphenol A (BPA) exposure for young male mice: Implications for children exposed to environmental levels of BPA. *Environ Pollut* 229:40–48. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.043>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

Artikel:

1. Kux BJ, Bacigalupo LM, Scriba A, Emmrich M, Jost-Brinkmann PG.
Elution study of acrylic monomers from orthodontic materials using high performance liquid chromatography (HPLC).
J Orofac Orthop. 2022;83(1):34-47. (Impact Factor 2020: 1,938)
2. Kux BJ, Koch PJ, Jost-Brinkmann PG.
CAD/CAM und Digitalisierung in der KFO – Die Lösung für alle Probleme?
Quintessenz Zahnmedizin. 2022;73(03):270-280.

Posterbeiträge:

1. Koch PJ, Heiland M, Kux BJ, Hofmann E, Jost-Brinkmann PG
Interdisciplinary Treatment of a Patient with Goldenhar Syndrome, Facial Cleft and Impacted Canines. A Patient Report.
European Orthodontic Society: Annual Virtual Conference, 02. – 03. Juli 2021
2. Stolte KN, Bechtold TE, Koch PJ, Kux BJ, Dommisch H, Strietzel FP.
Autogene Zahntransplantation – eine Behandlungsalternative bei jungen Patienten mit kongenitalen Zahnnichtanlagen oder frühzeitigem Zahnverlust.
71. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Oral- und Kieferchirurgie &
42. Jahrestagung des Arbeitskreises für Oralpathologie und Kieferchirurgie.
Bad Homburg v. d. H., 26. – 27. Mai 2022.

Vorträge:

1. Bacigalupo LM, Scriba A, Kux BJ, Emmrich M, Jost-Brinkmann PG.
Nachweis von Monomerfreisetzung aus acrylhaltigen kieferorthopädischen Kompositen mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie.
91. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kieferorthopädie e. V.
Bremen, 10. – 13. Oktober 2018.
Ausgezeichnet mit dem Tagungsbestpreis für den besten Vortrag von Nachwuchswissenschaftler*innen.

Danksagung

Mein Dank gilt zuvorderst Herrn Prof. Dr. Paul-Georg Jost-Brinkmann für die Überlassung dieser wissenschaftlichen Arbeit, seine stetige Unterstützung auch in schwierigen Phasen des Projekts sowie die stets anregenden Diskussionen.

Weiterhin möchte ich mich bei Frau PD Dr. Monika Emmrich für ihre ständige Hilfe beim Erlernen der Methoden im Labor und explizit für die Hinführung zum Umgang mit der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie sowie ihre konstruktiven Vorschläge bei offenen Fragen und Schwierigkeiten bedanken. Auch gilt der Dank Dr. Luisa Maria Bacigalupo und Dr. Alexander Scriba für die Unterstützung im Promotionsverfahren und die gute Zusammenarbeit beim Vortrag für die 91. Jahrestagung der DGKFO e. V. 2018 in Bremen sowie bei der damit zusammenhängenden Publikation.

Abschließend danke ich besonders meinen Eltern, meinen Geschwistern und engen Freunden für ihren bedingungslosen Rückhalt, ihre beständige Geduld und ihre zielführenden Ratschläge.