

Ocena potencjalnej roli bisfenolu A w patogenezie zespołu wielotorbielowatych jajników

mgr Aleksandra Konieczna

Rozprawa na stopień doktora nauk o zdrowiu



Promotor:

dr hab. n. med. Dominik Rachoń, prof. nadzw. GUMed

Pracę zrealizowano ze środków Narodowego Centrum Nauki
w ramach grantu 2014/15/B/NZ7/00999

Wydział Nauk o Zdrowiu
Gdański Uniwersytet Medyczny

Gdańsk 2018

SPIS TREŚCI

Wykaz stosowanych skrótów	3
1. Wykaz prac stanowiących rozprawę doktorską	4
2. Wprowadzenie.....	5
3. Cele pracy.....	7
4. Podsumowanie opublikowanych wyników badań	8
5. Wnioski	10
6. Literatura	11
7. Streszczenie pracy w języku polskim	13
8. Streszczenie pracy w języku angielskim.....	14

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

- AE-PCOS** (ang. *Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society*)
Towarzystwo Nadmiaru Androgenów oraz PCOS
- BMI** (ang. *body mass index*) wskaźnik masy ciała
- BPA** bisfenol A
- E2** 17 β -estradiol
- EDC** (ang. *endocrine disrupting chemical*) związek endokrynnie czynny
- FAI** (ang. *free androgen index*) indeks wolnych androgenów
- FSH** (ang. *follicle-stimulating hormone*) hormon folikulotropowy
- HOMA-IR** (ang. *homeostasis model assessment of insulin resistance*)
wskaźnik oporności tkanek na insulinę
- HPLC-MS/MS** (ang. *high performance liquid chromatography-mass spectrometry*)
wysokosprawna chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas
- LH** (ang. *luteinizing hormone*) hormon luteinizujący
- PCOS** (ang. *polycystic ovary syndrome*) zespół wielotorbielowatych jajników
- TST** testosteron

1. WYKAZ PRAC STANOWIĄCYCH ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ

Podstawę niniejszej rozprawy stanowi cykl czterech spójnych tematycznie publikacji:

1. **Konieczna A.**, Rutkowska A., Rachoń D. 2015. „Health risk of exposure to bisphenol A (BPA)” *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, nr 1, 5-11. Punktacja MNiSW: 14

http://wydawnictwa.pzh.gov.pl/roczniki_pzh/download-article?id=1055

2. **Konieczna A.**, Rutkowska A., Szczepańska N., Namieśnik J., Rachoń D. 2018 „Canned food as a source of bisphenol A (BPA) exposure – estimation of consumption among young women from Gdansk, Poland” *Medycyna Środowiskowa - Environmental Medicine*, nr 21, 1-4. Punktacja MNiSW: 8

http://www.medycynasrodowiskowa.pl/Downloads/File/2018v1/MS_2018-1_04.pdf

3. Szybiak (**Konieczna**) **A.**, Rutkowska A., Wilczewska K., Wasik A., Namieśnik J., Rachoń D. 2017. „Daily diet containing canned products significantly increases serum concentrations of endocrine disruptor bisphenol A in young women” *Polish Archives of Internal Medicine*, nr 4, 278-280. **IF: 2.658**; punktacja MNiSW: 30

http://pamw.pl/sites/default/files/007_Szybiak_0.pdf

4. **Konieczna A.**, Rachoń D., Owczarek K., Kubica P., Kowalewska A., Kudłak B., Wasik A., Namieśnik J. 2018. „Serum bisphenol A concentrations correlate with serum testosterone levels in women with polycystic ovary syndrome”. *Reproductive Toxicology*, <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2018.09.006>, **IF: 2.580**; punktacja MNiSW: 35

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0890623818303393?via%3Dihub>

Sumaryczna punktacja: **IF: 5.238**, MNiSW: 87

2. WPROWADZENIE

Temat związków endokrynnie czynnych (ang. *endocrine disrupting chemicals*, EDC) już od dłuższego czasu przyciąga coraz większą uwagę naukowców, zarówno ze względu na ich wszechobecność w środowisku, jak i szkodliwe skutki zdrowotne. Według definicji Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska, EDC to „zewnątrz-pochodny czynnik, który ingeruje w syntezę, wydzielanie, transport, metabolizm, wiązanie przez receptor lub eliminację naturalnych hormonów odpowiedzialnych za homeostazę, reprodukcję i procesy rozwojowe” (Diamanti-Kandarakis *i wsp.* 2009). Nie dziwi więc fakt, że EDC coraz częściej wskazywane są jako potencjalna przyczyna chorób cywilizacyjnych (Gore *i wsp.* 2015; Koch *i wsp.* 2015; Petrakis *i wsp.* 2017).

Jednym z najpowszechniej występujących EDC jest bisfenol A (BPA), związek o budowie aromatycznej, który dzięki strukturalnemu podobieństwu do hormonów steroidowych, może wchodzić w interakcje z receptorami dla estrogenów oraz androgenów (Thomas *i wsp.* 2006). Mimo że po raz pierwszy został wytworzony w 1891 roku, dopiero w latach 50 ubiegłego stulecia zyskał popularność jako plastyfikator (Vogel 2009) – substancja nadająca elastyczność oraz wytrzymałość tworzywom sztucznym (Oehlmann *i wsp.* 2009). Dlatego głównym źródłem narażenia na ten EDC są plastikowe wyroby tj. pudełka i opakowania (także do żywności), butelki, sprzęt elektroniczny, zabawki oraz produkty dla dzieci i niemowląt. Ponadto, BPA stosowany jest w produkcji puszek, a konkretnie żywic epoksydowych, które stanowią ich wewnętrzną warstwę. To dlatego uważa się, że żywność, a przede wszystkim spożycie produktów puszkowanych, stanowi główne, niezwiązane z pracą zawodową źródło ekspozycji na BPA. Szczegółowo zostało to przeze mnie opisane w dołączonej publikacji pt. „Health risk of exposure to bisphenol A (BPA)” (Konieczna *i wsp.* 2015).

W ostatnich latach wykazano, że BPA może odgrywać istotną rolę w patogenezie zaburzeń endokrynnych takich jak niepłodność, przedwczesne dojrzewanie płciowe, nowotwory estrogenozależne czy zaburzenia metaboliczne. Jedną z najczęstszych endokrynopatii wśród kobiet jest zespół wielotorbielowatych jajników (ang. *polycystic ovary syndrome*, PCOS). W zależności od przyjętych kryteriów diagno-

stycznych, PCOS może dotyczyć 4-20 % kobiet w wieku rozrodczym (Lizneva *i wsp.* 2016). Zespół ten charakteryzuje nadmierna jajnikowa produkcja androgenów, co klinicznie objawia się zaburzeniami miesiączkowania (a tym samym płodności), hirsutyzmem, trądzikiem, łysieniem androgenowym oraz insulinoopornością (O'Reilly *i wsp.* 2014). W konsekwencji, PCOS wiąże się ze zwiększonym ryzykiem występowania otyłości, nadciśnienia tętniczego oraz cukrzycy typu 2 (Anagnostis *i wsp.* 2017; Rubin *i wsp.* 2017). W 2006 roku eksperci Towarzystwa Nadmiaru Androgenów oraz PCOS (ang. *Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society*, AE-PCOS), zgodnie ustalili, że hiperandrogenizm jest niezbędnym objawem do rozpoznania PCOS, któremu towarzyszy zaburzenie czynności jajników pod postacią zaburzeń miesiączkowania i/lub występowania zmian torbielowatych w obrębie ich miąższu (Azziz *i wsp.* 2006). Jednocześnie konieczne jest wykluczenie innych schorzeń przebiegających z hiperandrogenizmem takich jak wrodzony nieklasyczny przerost kory nadnerczy, guzy wirylizujące jajników lub nadnerczy oraz choroba Cushinga (Rachoń 2012).

PCOS cechuje się złożonym obrazem klinicznym, który wynika nie tylko z zaburzeń hormonalnych, ale także z interakcji różnych czynników genetycznych oraz środowiskowych (Welt *i wsp.* 2014). Pomimo to, dokładna patogeneza PCOS pozostaje nieznana.

3. CELE PRACY

Celem pracy było zbadanie, czy BPA, jako jeden z czynników środowiskowych, może odgrywać rolę w patogenezie PCOS. Przedmiotem moich badań stały się więc następujące zagadnienia:

1. Oszacowanie stopnia narażenia na BPA związanego ze spożyciem określonych produktów.
2. Ocena czy spożycie puszkowanych produktów prowadzi do wzrostu stężeń BPA w surowicy kobiet.
3. Ocena stężeń BPA w surowicy kobiet z PCOS oraz ich potencjalnego wpływu na profil hormonalny oraz metaboliczny tych pacjentek.

Hipoteza badawcza:

Ekspozycja kobiet na powszechnie występujący BPA, może mieć związek z występowaniem i charakterystyką hormonalną kobiet z PCOS.

4. PODSUMOWANIE OPUBLIKOWANYCH WYNIKÓW BADAŃ

„Canned food as a source of bisphenol A (BPA) exposure – estimation of consumption among young women from Gdansk, Poland”

(Konieczna A *i wsp.* Medycyna Środowiskowa-Environmental Medicine, 2018; 21, 1-4)

Celem powyższego badania była ocena potencjalnego narażenia na BPA wśród młodych mieszkank Gdańska. Badanie miało charakter ankietowy. Respondentki (n=277) rzadko spożywały produkty o potencjalnie wysokiej zawartości BPA (>100 ng/g), jednakże deklarowały regularne spożycie produktów, które według danych literaturowych mają umiarkowane (10-100 ng/g) bądź niskie stężenie tego endokrynnie czynnego związku (<10 ng/g).

„Daily diet containing canned products significantly increases serum concentrations of endocrine disruptor bisphenol A in young women”

(Szybiak (Konieczna) A *i wsp.* Polish Archives of Internal Medicine, 2017; 4, 278-280)

Celem tego badania było określenie stężenia BPA w surowicy młodych kobiet po 7 dniach interwencji żywieniowej polegającej na spożywaniu produktów puszkowanych. Przed rozpoczęciem badania BPA wykrywany był u zdecydowanej większości uczestniczek (90 %). Nie wykazano różnic w wyjściowych stężeniach BPA w surowicy pomiędzy obiema grupami (grupa z interwencją vs. grupa kontrolna) dobranymi pod względem BMI oraz wieku. W surowicy kobiet z grupy spożywającej produkty puszkowane przez 7 dni (n=10) zaobserwowano istotnie zwiększenie stężenia BPA w surowicy. Po siedmiu dniach od zakończenia interwencji żywieniowej, surowicze stężenia BPA uległy zmniejszeniu do wartości wyjściowych. W grupie kontrolnej (n=10), której jadłospis wykluczał spożycie produktów puszkowanych i oparty był o świeże produkty sezonowe, nie zaobserwowano żadnych różnic w stężeniu BPA po 7 i 14 dniach obserwacji. Powyższe wyniki wskazują, że regularne spożycie żywności puszkowanej prowadzi do istotnego zwiększenia stężenia BPA w surowicy.

„Serum bisphenol A concentrations correlate with serum testosterone levels in women with polycystic ovary syndrome”

(Konieczna A *i wsp.* Reproductive Toxicology 2018, doi: 10.1016/j.reprotox.2018.09.006)

Celem tej pracy było oznaczenie stężenia BPA w surowicy kobiet z PCOS, a także analiza jego potencjalnego wpływu na ich profil hormonalny i metaboliczny. Do badania włączono 106 kobiet z PCOS zdiagnozowanym według kryteriów AE-PCOS oraz 80 zdrowych kobiet stanowiących grupę kontrolną. Kobiety dobrane były pod względem wieku i BMI oraz nie różniły się między sobą obwodem talii, wartościami ciśnienia tętniczego, stężeniem glukozy i insuliny w surowicy ani HOMA-IR. U kobiet z PCOS zaobserwowano charakterystyczne dla tego zespołu wyższe surowicze stężenia androgenów, LH oraz wyższy stosunek LH/FSH, a także niższy E2, w porównaniu z kobietami z grupy kontrolnej.

Podobnie jak w badaniu poprzednim, BPA wykrywany był w surowicy krwi zdecydowanej większości uczestniczek (w 99 % w grupie PCOS oraz 92 % w grupie kontrolnej). Co więcej, stężenia BPA w surowicy kobiet z PCOS były znamienne wyższe w porównaniu z grupą kontrolną. Pomimo iż nie zaobserwowano różnic w surowiczym stężeniu BPA pomiędzy poszczególnymi fenotypami PCOS (A, B i C), wykazano dodatnią korelację BPA ze stężeniem testosteronu całkowitego (TST), jak również z indeksem wolnych androgenów (FAI) w tej grupie. Nie było natomiast korelacji pomiędzy surowiczym stężeniem BPA a parametrami metabolicznymi.

5. WNIOSKI

Wyniki przeprowadzonych i opublikowanych przeze mnie badań, pozwalają na sformułowanie następujących wniosków :

1. Młode kobiety są narażone na spożycie produktów zawierających umiarkowane i niskie stężenia BPA.
2. Spożycie żywności puszkowanej zwiększa surowicze stężenie BPA u młodych kobiet.
3. Stężenia BPA w surowicy kobiet z PCOS są istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną i korelują dodatnio ze stężeniem TST oraz FAI. Nie zaobserwowano natomiast żadnego związku z parametrami metabolicznymi.

6. LITERATURA

Anagnostis P, Tarlatzis BC, Kauffman RP. 2017. *Polycystic ovarian syndrome (PCOS): Long-term metabolic consequences*. Metabolism. 86: 33-43.

Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, Janssen OE, Legro RS, Norman RJ, Taylor AE, Witchel SF. 2006. *Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline*. J Clin Endocrinol Metab 91(11): 4237-4245.

Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, Zoeller RT, Gore AC. 2009. *Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement*. Endocr Rev 30(4): 293-342.

Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, Flaws JA, Nadal A, Prins GS, Toppari J, Zoeller RT. 2015. *Executive Summary to EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals*. Endocr Rev 36(6): 593-602.

Koch CA and Diamanti-Kandarakis E. 2015. *Introduction to Endocrine Disrupting Chemicals-is it time to act?* Rev Endocr Metab Disord 16(4) :269-270.

Konieczna A, Rutkowska A and Rachoń D. 2015. *Health risk of exposure to Bisphenol A (BPA)*. Rocz Panstw Zakl Hig 66(1): 5-11.

Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavrilova-Jordan L and Azziz R. 2016. *Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome*. Fertil Steril 106(1): 6-15.

O'Reilly MW, Taylor AE, Crabtree NJ, Hughes BA, Capper F, Crowley RK, Stewart PM, Tomlinson JW and Arlt W. 2014. *Hyperandrogenemia predicts metabolic phenotype in polycystic ovary syndrome: the utility of serum androstenedione*. J Clin Endocrinol Metab 99(3): 1027-1036.

Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Kloas W, Jagnytsch O, Lutz I, Kusk KO, Wollenberger L, Santos EM, Paull GC, Van Look KJ and Tyler CR. 2009. *A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 364(1526): 2047-2062.

Petrakis D, Vassilopoulou L, Mamoulakis C, Psycharakis C, Anifantaki A, Sifakis S, Docea AO, Tsiaoussis J, Makrigiannakis A and Tsatsakis AM. 2017. *Endocrine Disruptors Leading to Obesity and Related Diseases*. Int J Environ Res Public Health 14(10).

Rachoń D. 2012. *Differential diagnosis of hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome*. Exp Clin Endocrinol Diabetes 120(4): 205-209.

Rubin KH, Glintborg D, Nybo M, Abrahamsen B and Andersen M. 2017. *Development and Risk Factors of Type 2 Diabetes in a Nationwide Population of Women With Polycystic Ovary Syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 102(10): 3848-3857.

Thomas P and Dong J. 2006. *Binding and activation of the seven-transmembrane estrogen receptor GPR30 by environmental estrogens: a potential novel mechanism of endocrine disruption*. J Steroid Biochem Mol Biol 102(1-5): 175-179.

Vogel SA. 2009. *The politics of plastics: the making and unmaking of bisphenol a "safety"*. Am J Public Health 99 Suppl 3: S559-566.

Welt CK and Duran JM. 2014. *Genetics of polycystic ovary syndrome*. Semin Reprod Med 32(3): 177-182.

(15 pozycji literatury)

7. STRESZCZENIE PRACY W JĘZYKU POLSKIM

Związki endokrynnie czynne (ang. *endocrine disrupting chemicals*, EDC) mogą brać udział w patogenezie chorób cywilizacyjnych. Bisfenol A (BPA) jest jednym z najpowszechniej występujących EDC, który dzięki swej aromatycznej budowie może wchodzić w interakcje z receptorami dla hormonów steroidowych. BPA stosowany jest powszechnie jako plastyfikator, a produkty puszkowane są uważane za główne źródło ekspozycji na ten związek. Zespół wielotorbielowatych jajników (ang. *polycystic ovary syndrome*, PCOS) jest jedną z najczęstszych endokrynopatii, którą charakteryzuje hiperandrogenizm pochodzenia jajnikowego oraz insulinooporność. Obecnie w patogenezie PCOS wskazuje się na rolę czynników środowiskowych.

Celem niniejszej pracy było oszacowanie skali narażenia na BPA związanego z dietą, wpływu ekspozycji żywieniowej oraz ocena jego stężeń w surowicy kobiet z PCOS. Pierwszym etapem projektu badawczego było przeprowadzenie ankiety wśród młodych (19-25 lat) mieszkanek Gdańska (n=277). Wyniki tego badania wskazały na rzadkie spożycie produktów o wysokiej zawartości BPA, ale regularne spożycie produktów o umiarkowanej i niskiej zawartości tego związku. Kolejnym etapem była ocena 7-dniowej ekspozycji kobiet na produkty zawierające BPA. Wyniki tej interwencji wskazały na istotny wzrost stężeń BPA w surowicy badanych kobiet (n=10) spożywających produkty puszkowane. Ostatnim etapem projektu była ocena stężeń BPA w surowicy kobiet z PCOS (n=106) oraz ich potencjalnego wpływu na parametry hormonalne i metaboliczne. Stężenia BPA w surowicy kobiet z PCOS były znamienne wyższe w porównaniu do kobiet z grupy kontrolnej (n=80) i korelowały dodatnio ze stężeniami testosteronu oraz indeksem wolnych androgenów (FAI).

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na problem powszechnej ekspozycji na BPA, która najprawdopodobniej związana jest z dietą, oraz jej potencjalny udział w patogenezie PCOS.

8. STRESZCZENIE PRACY W JĘZYKU ANGIELSKIM

Endocrine disrupting chemicals (EDCs) have been suggested as the potential contributors to the development of lifestyle-related diseases. One of the most common is bisphenol A (BPA), aromatic compound that can interact with steroid hormone receptors. BPA is nowadays primarily used as plasticizer and the consumption of canned products is considered to be the main source of BPA exposure. Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most frequent endocrinopathies characterised by ovarian hyperandrogenism and insulin resistance. Recently the environmental factors have been considered to play a role in its pathogenesis.

The aim of this study was to estimate the scale of exposure to BPA, the impact of diet and its serum concentrations in women with PCOS. In the first step, a survey among young female inhabitants (19-25 yrs) of the city of Gdańsk (Poland) was conducted (n=277). The results pointed to the rare consumption of products with high BPA content, but regular consumption of products with moderate and low concentrations of this compound. In the next step a 7-day intervention study was performed. The results showed that the consumption of canned products significantly raised BPA concentrations in the serum of studied female subjects (n=10). In the last step serum BPA levels were measured in women with PCOS (n=106) and were correlated with hormonal and metabolic parameters. Serum BPA turned out to be significantly higher in women with PCOS compared to the control subjects (n=80) and correlated with serum testosterone and the free androgen index (FAI).

The results of these studies point to the problem of the common BPA exposure, probably diet related, and its potential role in the pathogenesis of PCOS.