

## OCENA

Rozprawy doktorskiej lek med. Anetty Karwackiej

### **pt „Wpływ narażenia na powszechnie występujące związki środowiskowe zaburzające funkcję endokrynną na rezerwę jajnikową”**

Promotor: dr hab. med. Joanna Jurewicz, prof. IMP Kierownik Pracowni Środowiskowych Zagrożeń Reprodukcyjnych, Zakład Epidemiologii Środowiskowej, Instytut Medycyny Pracy w Łodzi

Niepłodność jest definiowana jako brak ciąży po ponad 12 miesiącach regularnego współżycia. Obecnie, w krajach rozwiniętych schorzenie to dotyczy nawet 15 procent par, spełniając kryteria choroby społecznej. Znaczące zwiększenie się odsetków par potrzebujących postępowania leczniczego w związku z problemami z uzyskaniem ciąży można powiązać ze zmianami socjologicznymi (późniejsze podejmowanie decyzji o ojcostwie / macierzyństwie), jak również z postępującą degradacją środowiska naturalnego i narażeniem społeczeństw na toksykanty, w tym na substancje zaburzające funkcjonowanie układu hormonalnego. Liczne badania wskazują, że narażenie na egzogenne związki endokrynne, określane po angielsku jako „Endocrine Disruptors” lub „Endocrine Disrupting Chemicals” (EDCs) negatywnie wpływa na zdrowie reprodukcyjne zwierząt i ludzi oraz jest powiązane z niepłodnością. Do związków z tej grupy zaliczyć można parabeny (zawarte w kosmetykach), ftalany (opakowania plastikowe), bisfenol A (szkła kontaktowe).

Ocenę potencjału reprodukcyjnego kobiet można prowadzić używając narzędzi określających tzw. rezerwę jajnikową – szacowania liczby pęcherzyków antralnych w jajnikach oraz oznaczeń hormonów takich jak AMH (hormon antymullerianowski) oraz FSH (hormon folikulotropowy) i estradiol. Zależność pomiędzy powszechnie występującymi czynnikami środowiskowymi a płodnością kobiet jest stosunkowo mało poznana. Wynika to z faktu, że skutki działania takich czynników środowiskowych są dość trudne do zaobserwowania i możliwe do oszacowania wyłącznie za pomocą badań posługujących się właściwymi biomarkerami narażenia. Kobiety często są narażone na większe stężenia czynników środowiskowych (zwłaszcza parabenów) z uwagi na częstsze stosowanie różnego rodzaju produktów kosmetycznych. Dodatkowo, ze względu na trudności w obiektywnej ocenie płodności kobiet niewiele jest badań analizujących ten temat.

W przedstawionej do recenzji pracy lek. med. Anetty Karwacka podjęła się oceny wpływu narażenia na związki zaburzające funkcję endokrynną na rezerwę jajnikową. Po dokładnym scharakteryzowaniu badanej populacji Doktorantka określiła związek między narażeniem środowiskowym na parabeny, syntetyczne pyretroidy, bisfenol A i triklosan a wykładnikami rezerwy jajnikowej kobiet leczonych z powodu niepłodności. Ostatecznie Doktorantka uzyskała wyniki sugerujące powiązania przyczynowo skutkowe między narażeniem na niektóre związki zaburzające funkcję endokrynną a potencjałem reprodukcyjnym kobiet.

Przedstawiona do recenzji praca spełnia obowiązujące standardy rozprawy doktorskiej. Praca obejmuje ogółem 169 stron wydruku komputerowego. Na początku pracy umieszczono czytelny wykaz użytych w pracy skrótów wraz z ich polskojęzycznym tłumaczeniem. W części wstępnej praca zawiera opis obecnego stanu wiedzy na temat wpływu narażeń na czynniki zaburzające funkcję endokrynną (EDCs) na rezerwę jajnikową. Dalsza część pracy zawiera sformułowanie problemu badawczego i celu pracy oraz 4 jej zasadnicze części - Materiał i Metody, Wyniki, Dyskusja i Wnioski. Do pracy dołączono streszczenie w języku polskim i angielskim wykaz piśmiennictwa oraz załączniki - Informacje dla osób objętych badaniem, Formularz świadomej zgody, Ankietę na temat Wpływu czynników środowiskowych na płodność, Kwestionariusz do Subiektywnej Oceny Pracy, Kwestionariusz stresu Cohena, Ankietę żywieniową oraz Kwestionariusz Aktywności Ruchowej. W pracy umieszczono 11 tabel i 4 ryciny ilustrujące uzyskane wyniki oraz 195 pozycji piśmiennictwa ułożonego alfabetycznie według nazwiska pierwszego autora, z czego większość stanowią pozycje anglojęzyczne.

**Część wstępna** pracy (33 strony) składa się z pięciu podrozdziałów bardzo szczegółowo opisujących aspekty ekspozycji na czynniki zaburzające funkcję endokrynną na rezerwę jajnikową, podaje przegląd informacji na temat rozwoju gonady żeńskiej i ustanowienia rezerwy jajnikowej, mechanizmów działania wybranych związków środowiskowych zaburzających funkcję endokrynną na gonadę żeńską i rezerwę jajnikową kobiet, podsumowuje również stan wiedzy o wpływie wybranych czynników środowiskowych zaburzających funkcję endokrynną na potencjał rozrodczy kobiet i rezerwę jajnikową. Część wstępna jest doskonałym wprowadzeniem w tematykę pracy, a ostatni podrozdział wstępu - stanowi wyczerpujące i wprowadzenie do sformułowania problemu badawczego i celów pracy.

**Celem** ogólnym pracy jest ocena wpływu ekspozycji środowiskowej na badane związki chemiczne zaburzające funkcje endokrynne na rezerwę jajnikową kobiet, cele szczegółowe zostały ujęte w trzech jasno sformułowanych punktach.

W części **Material i metody** (11 stron) doktorantka w zwięzły i przejrzysty sposób opisuje kryteria doboru oraz kryteria wykluczenia grupy badanej oraz przedstawia model badania epidemiologicznego. Dla analizy zależności pomiędzy narażeniem na powszechnie występujące czynniki środowiskowe z grupy zaburzających funkcję endokrynną (bisfenol A, parabeny, triklosan, syntetyczne pyretroidy) na rezerwę jajnikową kobiet przyjęto model badania przekrojowego. Do badania zakwalifikowano grupę 511 kobiet w wieku 24-39 lat. Do badania kwalifikowano kobiety regularnie miesiączkujące, u których potwierdzono cykle owulacyjne, nieposiadające współistniejących chorób przewlekłych o znaczeniu klinicznym, mogących obniżać rezerwę jajnikową. Kryteria wykluczające stanowiły: trzy poronienia w wywiadzie, powyżej trzech przeprowadzonych procedur zapłodnienia pozaustrojowego, samoistna przedwczesna niewydolność jajników, przebyte leczenie chirurgiczne w obrębie jajników, chemioterapii lub radioterapii miednicy mniejszej, obecność torbieli w jajnikach oraz stany przebiegające z brakiem cykli owulacyjnych.

Informacje dotyczące badanych kobiet doktorantka uzyskała na podstawie specjalnie stworzonych kwestionariuszy pozwalających na uzyskanie danych dotyczących cech społeczno-demograficznych i stylu życia, diety, aktywności fizycznej, stresu, chorób występujących w przeszłości i innych narażeń występujących w środowisku zamieszkania lub pracy. Szczególną uwagę zwraca kompleksowość uzyskanych danych oraz właściwy dobór i zaawansowanie użytych kwestionariuszy (Kwestionariusz narażeń i pracy zawodowej z Instytutu Medycyny Pracy w Łodzi, kwestionariusz Food Frequency Questionnaire, kwestionariusz Seven Day Physical Activity Recall, kwestionariusz Cohena oceny stresu, kwestionariusz Subiektywnej Oceny Pracy). Dane uzyskane w ten sposób zostały we właściwy sposób zestawione z danymi antropometrycznymi, oceną rezerwy jajnikowej – w tym liczby pęcherzyków antralnych, stężenia hormonów AMH, FSH i estradiolu oraz danymi pochodzącymi z oznaczeń próbek moczu na czynniki zaburzające funkcję endokrynną (EDCs) – w tym - nietrwałe zanieczyszczenia organiczne takie jak: metabolity pyretroidów (CDCCA, TDCCA (kwasy cis- i trans-(2,2-dichlorowinylo)-2,2-dimetylocyklopropano-1-karboksyłowe), cis-DBCA (kwas cis-(2,2-dibromowinylo)-2,2-dimetylocyklopropano-1-karboksyłowy), 3-PBA (kwas 3-fenoksybenzoesowy)), parabeny - metylowy, etylowy, propylowy, butylowy i izobutylowy i ich metabolity, jak również bisfenol A oraz triklosan.

Niewątpliwym, zwracającym uwagę atutem pracy jest ocena narażenia na analizowane związki dwukrotnie, w odstępie od trzech do sześciu miesięcy

Przedstawiona zaawansowana analiza statystyczna wyników opierała się na prawidłowych założeniach wielkości próby badanej oraz mocy oceny. Pierwszym etapem analizy była identyfikacja czynników zakłócających, kolejny etap obejmował zastosowanie regresji liniowej lub logistycznej. Ostateczny model wieloczynnikowy uwzględniał czynniki zakłócające oraz wszystkie istotne czynniki w modelu jednoczynnikowym. Właściwy dobór metod statystycznych pozwolił na wyznaczenie współczynników zależności poszczególnych miar rezerwy jajnikowej od poszczególnych narażeń.

Rozdział **Wyniki** (19 stron) zawiera kompleksowe przedstawienie uzyskanych danych. W pierwszej części wyników doktorantka szczegółowo przedstawia charakterystykę badanej populacji, dalsze części zawierają kolejno zestawienie parametrów oceny rezerwy jajnikowej z obliczeniem statystyk opisowych (mediana / średnia / kwartyle) oraz zestawienia stężeń związków zaburzających funkcję endokrynną. W kolejnej części rozdziału Wyniki doktorantka szczegółowo przedstawia analizy statystyczne oceniające zależności pomiędzy narażeniem na badane czynniki środowiskowe a rezerwą jajnikową – zarówno w modelu jednoczynnikowym, jak i wieloczynnikowym. Podkreślenia zasługuje zaawansowanie zastosowanych metod statystycznych oraz czytelne przedstawienie uzyskanych wyników, zilustrowane 11 tabelami i 4 rycinami.

**Dyskusja** (22 strony) została przedstawiona w sposób systematyczny, całościowy i uporządkowany. Doktorantka właściwie uzasadnia dobór zastosowanych narzędzi badawczych (np. dobór hormonów użytych w ocenie rezerwy jajnikowej), właściwie prezentuje swoje wyniki oraz prawidłowo przedstawia korelacje między narażeniem na czynniki zaburzające funkcję endokrynną (bisfenolu A, parabenów, triklosanu i syntetyczny pyretroidów) z rezerwą jajnikową badanych kobiet. Na uwagę zasługuje szczegółowe przedstawienie i właściwe omówienie ograniczeń prezentowanych wyników, które nie zmniejsza wartości uzyskanych wyników.

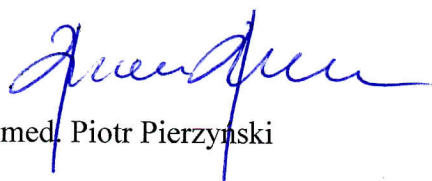
**Wnioski** doktoratu zostały precyzyjnie ujęte w pięciu informatywnych podpunktach. Stwierdzono, że pomiary narażeń na czynniki środowiskowe zaburzające czynność endokrynną potwierdziły ekspozycję na badane czynniki (parabeny, syntetyczne pyretroidy, bisfenol A i triklosan), narażenie na parabeny i bisfenol A wpływało negatywnie na parametry rezerwy jajnikowej, narażenie na propyl-paraben i bisfenol A wiązało się ze zmniejszeniem liczby pęcherzyków antralnych, ekspozycja na bisfenol A związana była z negatywnym wpływem na stężenie AMH, natomiast ekspozycja na propyl-paraben wiązała się

ze zwiększeniem stężeń FSH i zmniejszeniem stężeń estradiolu. Doktorantka potwierdziła we wnioskach, iż nie wykazano związku między narażeniem na inne parabeny (metylowy, etylowy, butylowy i izobutylowy), triklosan i syntetycznymi pyretroidami, a liczbą pęcherzyków antralnych i stężeniem badanych hormonów. Należy zgodzić się z wnioskami końcowymi, iż kobiety w wieku rozrodczym powinny być wszechstronnie informowane za pomocą przekazów medialnych o wpływie powszechnie występujących czynników środowiskowych zaburzających funkcję endokrynną zwłaszcza bisfenolu A i propylparabenu na rezerwę jajnikową oraz iż kobiety planujące ciążę oraz ciężarne powinny otrzymywać informacje od prowadzących ich lekarzy o zasadności ograniczenia kontaktu z tymi substancjami oraz wykaz produktów, w jakich mogą się one zawierać.

Wszystkie wnioski, jakie wysunęła Doktorantka są bardzo istotne w obliczu tak poważnego problemu, jakim jest środowiskowa ekspozycja na czynniki zaburzające funkcję endokrynną oraz jej potencjalne konsekwencje społeczne.

Uważam, że praca lek. med. Anetty Karwackiej pt. „Wpływ narażenia na powszechnie występujące związki środowiskowe zaburzające funkcję endokrynną na rezerwę jajnikową”, dotyczy ważnych zagadnień klinicznych, mających praktyczne znaczenie dla dużej liczby pacjentów. Praca wymagała opanowania wielu zagadnień: biochemii, epidemiologii, socjologii, statystyki, oraz medycyny rozrodu, co świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu merytorycznym Doktorantki. Autorka przeanalizowała bogaty materiał kliniczny populacji kobiet niepłodnych, odpowiadając w sposób wiarygodny na założone cele. Manuskrypt został napisany w sposób przemyślany, staranny, bez niedoskonałości technicznych. Ocena ogólna pracy doktorskiej lek. med. Anetty Karwackiej jest bardzo dobra.

Wobec powyższego, zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Medycyny Pracy im. prof. dra med. Jerzego Nofera w Łodzi z wnioskiem o dopuszczenie lek. med. Anetty Karwackiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. n med. Piotr Pierzynski