



Lékařská fakulta
Univerzity Palackého
v Olomouci

Ústav lékařské
biofyziky

Oponentský posudek na dizertační práci

Název práce: Stanovení potenciálu endokrinní disrupce včasnou identifikací vybraných látek se zdravotním rizikem, používaných ve spotřebních výrobcích.

Autor: Mgr. Markéta Dvořáková

Školitel: MUDr. Dagmar Jírová, CSc.

Školící pracoviště: Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta

Oponent: Prof. RNDr. Hana Kolářová, CSc.

Pracoviště: Ústav lékařské biofyziky LF UP v Olomouci

Dizertační práce o rozsahu 164 stran se zabývá aktuální problematikou, a to identifikací látek s potenciálem endokrinní disrupce, které mohou být součástí spotřebních výrobků, možnostem sledování expozice osob endokrinním disruptorům a nástrojům efektivní intervence v preventivní medicíně.

Po formální stránce je práce členěna do logických celků a zpracována přehledným způsobem. Experimentální výsledky jsou precizně dokumentovány a diskutovány v kontextu relevantních literárních dat.

V kapitole **Literární úvod a přehled dané problematiky** autorka podává ucelený a podrobný přehled aktuálních vědeckých informací o významných zdrojích a mechanismech endokrinní disrupce a o komplexním systému steroidní signalizace. Literární úvod zahrnuje i významnou část zaměřenou na možnosti a zkušenosti oboru preventivní medicíny na snižování expozice endokrinním disruptorům z oblasti biologického monitorování a na dostupné možnosti intervence. Přehled problematiky obsahuje i podrobný výčet aktuálně využitelných metod *in vitro* pro sledování endokrinního potenciálu, a to jak legislativně závazných, tak vědecky validních. Věcně správně jsou zdůrazněny výhody a omezení jednotlivých metodických postupů a je zdůrazněno uplatňování strategie 3R při návrhu a realizaci toxikologických studiích. Literární odkazy jsou aktuální a plně relevantní oblasti sledované problematiky, a to až do současnosti.

Ve stati **Hypotézy** autorka jasně vystihla záměr vědecké práce, kterým je ověření přítomnosti nebo absence potenciálu endokrinní disrupce u látek očekávaných jako součást spotřebních výrobků, stanovení možné endokrinní aktivity u finálních spotřebních výrobků a stanovení indikátorů expozice u exponovaných osob. V této souvislosti je zdůrazněna i potřeba vyhodnotit vypovídací schopnost u nových, alternativních metodických postupů *in vitro* pro stanovení potenciálu endokrinní disrupce.



Cíle práce jsou přehledně a precizně definovány a logicky na sebe navazují. V rámci disertační práce byly veškeré stanovené cíle naplněny. Byly zavedeny a optimalizovány alternativní toxikologické metody *in vitro* pro stanovení potenciálu endokrinní disrupce jak u rizikových skupin chemických látek a spotřebních výrobků, tak pro stanovení aktivity v biologických materiálech exponovaných osob. Metody *in vitro* byly založené na dvou testovacích systémech (lidské buněčné linii a dvou kvasinkových kmenech) a byly využívány i metody *in silico*. Jako modelové látky byly zvoleny sloučeniny ze skupiny ftalátů a bisfenolů. Využitelnost metod *in vitro* byla ověřena dále při testování endokrinní aktivity u finálních spotřebních výrobků na bázi papíru nebo plastů, kosmetických přípravků a doplňků stravy. Možná zvýšená expozice endokrinním disruptorům u exponovaných osob byla sledována v pilotní studii, která zahrnovala analýzu moči na přítomnost metabolitů ftalátů, bisfenolu A, F a S ve skupině 96 osob. Autorka prokázala, že bisfenoly a metabolity ftalátů mohou být detekovány v moči běžné populace, v některých případech i ve velmi vysokých koncentracích, ale zjistila také, že přestože je expozice ftalátům a bisfenolům kontinuální, jsou tyto látky zpravidla účinně z organismu eliminovány. Doplňková studie byla následně zaměřena na možnosti snížit expozici ftalátům a bisfenolům specifickou dietou s omezením spotřeby konzervovaných nápojů a potravin. Pilotní studie se zařazením diety byla provedena v omezeném souboru dobrovolníků a bylo by vhodné ji realizovat a doplnit na širším souboru osob. Autorka naplnila i závěrečný cíl práce, kterým bylo zpracování informačního letáku určeného k distribuci pro laickou i odbornou veřejnost, který zahrnuje preventivní doporučení ke snížení expozice endokrinním disruptorům a dalším rizikovým látkám.

Metodická část je rozsáhlá a detailně popisuje principy a postupy jednotlivých zkoušek, včetně přípravy vzorků. Jsou uváděny relevantní citace metodických zdrojů, popis postupů je srozumitelný a systém vyhodnocení výsledků je řádně dokumentován. Vysoce ceněným přínosem předložené disertační práce je nejen precizní provedení experimentálních postupů s využitím biologických metod *in vitro*, ale zejména jejich inovativní modifikace.

Výsledky jsou zpracovány přehledně a prezentovány formou komentovaných grafů a tabulek. Některé grafy obsahují křivky v černobílém provedení, jiné v barevném provedení. Z hlediska srozumitelnosti by bylo přínosem mít k dispozici grafy ve větší velikosti. Nicméně, drobné formální nedostatky nesnižují odbornou kvalitu prezentované práce. Nesporným, unikátním přínosem práce je zavedení nových toxikologických metod *in vitro* a ověření jejich vypovídací schopnosti pro identifikaci vybraných účinků endokrinní disrupce nejen v rámci skupin rizikových chemických látek, ale i ve skupinách výrobků určených širokému okruhu spotřebitelů včetně zranitých skupin, jako jsou děti v časných obdobích vývoje, a dále využití těchto metod i pro stanovení expozice, tj. stanovení aktivity tělních tekutin u exponovaných osob (např. moči). Ve všech fázích



experimentálních prací autorka prokázala kontinuální publikační aktivitu u dílčích i integrovaných výsledků.

V **diskusi** autorka poukazuje na výhody a omezení u použitých metod a na faktory, které je třeba brát v úvahu při vyhodnocení výsledků. Tato část dokumentuje dobrou orientaci autorky v dané problematice. Zejména oceňuji průkaz přínosu metod *in vitro* pro identifikaci absence potenciálu endokrinní disrupce, která je požadována z hlediska stanovení bezpečnosti u výrobků určených spotřebitelům. Často je již v případě zjištění známek slabého potenciálu aktivity doporučován tzv. princip předběžné opatrnosti a omezení použití takových látek do spotřebních výrobků. Nezřídka jsou tak však omezovány i látky s prokazatelným benefitem pro člověka, aniž byla řádně vyhodnocena jejich systémová expozice s přihlédnutím k dávce a cestě expozice a aniž bylo adekvátně vyhodnoceno zdravotní riziko. V tomto kontextu jsou níže směřovány i moje otázky k autorce. Významným společenským přínosem disertační práce jsou praktická preventivní doporučení zpracovaná ve formě letáku a využitelná v rámci oboru preventivní medicíny.

Z formálního hlediska jsem zaznamenala jen drobné nedostatky, např. nevysvětlená zkratka „NC“ v grafu č.1, nejasná zkratka „Byl. Krém“ v grafu č.7 nebo použití přejatého slova „project“ z angličtiny na str.91.

K experimentálním postupům mám následující **dotazy a připomínky** :

1. Extrakty ze spotřebních výrobků ve formě plastů jsou prováděny do DMSO z metodických důvodů s cílem dosáhnout maximální výtěžnosti potenciálně rizikových látek z materiálu výrobku. Tento způsob však nekoresponduje s očekávaným způsobem použití výrobku, nesimuluje očekávanou cestu expozice a může dojít ke zkreslení hladiny expozice. V případě očekávaného kontaktu s kůží či dutinou ústní je možno využít i přirozené extraktanty, např. roztoky simulující sliny, pot či žaludeční tekutinu tak, aby bylo dosaženo relevantní simulace expozice u osob. Uvažujete o tom nebo v tom nevidíte přínos? Prosím o stanovisko.
2. S přihlédnutím ke zjištěným hodnotám přítomnosti endokrinně disruptivní aktivity u jednotlivých skupin spotřebních výrobků a cestě expozice, lze testované skupiny výrobků seřadit dle závažnosti zdravotního rizika, které představují pro spotřebitele?

Výsledky práce považuji jako vhodný základ nejen pro publikace v odborné literatuře, ale i pro intervenční programy a osvětu pro širokou veřejnost spotřebitelů.



Lékařská fakulta
Univerzity Palackého
v Olomouci

Ústav lékařské
biofyziky

Závěr:

Výše uvedené formální i odborné připomínky nijak nesnižují vysokou kvalitu předložené práce. Autorka prokázala schopnost vědecké práce v rámci svého oboru a uplatnila originální přístup při aplikaci a modifikaci metod *in vitro* pro stanovení potenciálu endokrinní disrupce u rizikových skupin chemických látek, spotřebních výrobků i exponovaných osob. Předloženou disertační práci Mgr. Markéty Dvořákové **doporučuji k obhajobě.**

Prof. RNDr. Hana Kolářová, CSc.
Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci