

**lek. Justyna Milczarek-Banach**

*„Mała tarczyca” jako czynnik predykcyjny występowania niedoczynności tarczycy o etiologii innej niż autoimmunizacyjna u kobiet w wieku rozrodczym – ocena wpływu bisfenolu A i jego analogów.*

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: dr hab. n. med. Piotr Miśkiewicz

Klinika Chorób Wewnętrznych i Endokrynologii

Warszawski Uniwersytet Medyczny



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2021 r.

**Słowa kluczowe:** objętość tarczycy, mała tarczyca, niedoczynność tarczycy, funkcja tarczycy, tyreotropina, autoimmunizacja, związki endokrynnie czynne, chemikalia, bisfenol, plastik, ciąża, rozród, kobiety

**Keywords:** thyroid volume, small thyroid gland, hypothyroidism, thyroid function, thyrotropin, autoimmunity, endocrine disruptors, chemicals, bisphenol, plastic, pregnancy, reproduction, women

Badania wchodzące w skład niniejszej pracy doktorskiej zostały przeprowadzone w ramach projektu badawczego pt. **„Objętość tarczycy jako czynnik rokowniczy rozwoju niedoczynności tarczycy u kobiet w okresie reprodukcyjnym. Wyznaczenie dolnej granicy normy objętości tarczycy.”**

**Kierownik projektu:** lek. Justyna Milczarek-Banach

**Opiekun projektu:** dr hab. n. med. Piotr Miśkiewicz

**Pragnę złożyć serdeczne podziękowania**

**dr hab. n. med. Piotrowi Miśkiewiczowi**

- za nieocenioną pomoc i opiekę naukową podczas realizacji pracy doktorskiej

**prof. dr hab. n. med. Tomaszowi Bednarczukowi**

- za okazane zaufanie i możliwość prowadzenia projektu naukowego w Klinice Chorób Wewnętrznych i Endokrynologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

**prof. dr hab. n. med. Dominikowi Rachoniowi**

**prof. dr hab. inż. Andrzejowi Wasikowi**

- za możliwość wielośrodkowej współpracy

**dr n. przyr. Agnieszce Kondrackiej**

**dr n. przyr. Zbigniewowi Bartoszewiczowi**

**mgr Katarzynie Owczarek**

**mgr Andrzejowi Berg**

- za wykonanie oznaczeń laboratoryjnych

**lek. Katarzynie Myśliwiec – Czajce**

- za pomoc w organizacji projektu naukowego

**Małgorzacie Zawierucha**

- za pomoc w gromadzeniu materiału naukowego

**lek. med. Marcinowi Żachowi**

- za naukę tajników ultrasonografii

**Koleżankom i Kolegom z Kliniki Chorób Wewnętrznych i Endokrynologii  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**

- za przekazaną wiedzę oraz wspólnie spędzony czas

**Mężowi, Rodzicom, Siostrze oraz Szwagrowi**

- za ogromne wsparcie podczas pisania pracy doktorskiej

**Pracę dedykuję Dzieciom  
Basi i Pawelkowi,  
które wnoszą tyle radości do mojego życia.**

## Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską

1. **Justyna Milczarek-Banach**, Piotr Miśkiewicz. "Small thyroid gland" in reproductive women without autoimmune thyroid disease-ultrasonographic evaluation as a useful screening tool for hypothyroidism. Journal of Clinical Medicine. 2021 Apr 22;10(9):1828. **[IF 3,303; MEiN 140]**
2. **Justyna Milczarek-Banach**, Dominik Rachoń, Tomasz Bednarczuk, Katarzyna Myśliwiec-Czajka, Andrzej Wasik, Piotr Miśkiewicz. Exposure to bisphenol A analogs and the thyroid function and volume in women of reproductive age-cross-sectional study. Frontiers in Endocrinology. 2021 Jan 19;11:587252. **[IF 3,644; MEiN 100]**
3. **Justyna Milczarek-Banach**, Piotr Miśkiewicz. The role of bisphenol A and its analogues as endocrine disruptors influencing the thyroid gland: a short review. Journal of Medical Science. 2020 Sep 30; 89(3):e441. **[MEiN 20]**

Łączny Impact Factor: **6,947**

Łączna punktacja MEiN: **260**

## Spis treści

1. Wykaz stosowanych skrótów.....	str. 8
2. Streszczenie w języku polskim.....	str. 9
3. Streszczenie w języku angielskim.....	str. 12
4. Wstęp.....	str. 15
4.1. Definicja niedoczynności tarczycy.....	str. 15
4.2. Klasyfikacja niedoczynności tarczycy.....	str. 15
4.3. Epidemiologia niedoczynności tarczycy.....	str. 15
4.4. Etiologia niedoczynności tarczycy.....	str. 15
4.5. Obraz kliniczny niedoczynności tarczycy.....	str. 16
4.5.1. Obraz kliniczny niedoczynności tarczycy w ogólnej populacji.....	str. 16
4.5.2. Obraz kliniczny niedoczynności tarczycy u kobiet ciężarnych.....	str. 17
4.6. Rozpoznanie pierwotnej niedoczynności tarczycy.....	str. 17
4.7. Leczenie pierwotnej niedoczynności tarczycy.....	str. 18
4.8. Czynniki wpływające na objętość tarczycy.....	str. 18
4.9. Wpływ bisfenolu A i jego analogów na funkcję i objętość tarczycy.....	str. 19
4.10. Uzasadnienie połączenia prac w cykl publikacji.....	str. 20
5. Założenia i cel pracy.....	str. 20
5.1. Założenia pracy.....	str. 20
5.2. Cel pracy.....	str. 21
6. Prace tworzące cykl publikacji.....	str. 22
6.1. "Small Thyroid Gland" in Reproductive Women without Autoimmune Thyroid Disease-Ultrasonographic Evaluation as a Useful Screening Tool for Hypothyroidism.....	str. 23
6.2. Exposure to Bisphenol A Analogs and the Thyroid Function and Volume in Women of Reproductive Age-Cross-Sectional Study.....	str. 32
6.3. The role of bisphenol A and its analogues as endocrine disruptors influencing the thyroid gland: a short review.....	str. 43
7. Podsumowanie.....	str. 50
8. Wnioski.....	str. 52
9. Piśmiennictwo.....	str. 53
10. Opinia Komisji Bioetycznej lub Etycznej.....	str. 58
11. Oświadczenia współautorów.....	str. 60

## 1. Wykaz stosowanych skrótów

<b><u>Skrót</u></b>	<b><u>Nazwa angielska</u></b>	<b><u>Nazwa polska</u></b>
<b>ATA</b>	American Thyroid Association	Amerykańskie Towarzystwo Tyreologiczne
<b>BMI</b>	body mass index	wskaźnik masy ciała
<b>BPA</b>	bisphenol A	bisfenol A
<b>BPS</b>	bisphenol S	bisfenol S
<b>BPC</b>	bisphenol C	bisfenol C
<b>BPE</b>	bisphenol E	bisfenol E
<b>BPF</b>	bisphenol F	bisfenol F
<b>BPG</b>	bisphenol G	bisfenol G
<b>BPM</b>	bisphenol M	bisfenol M
<b>BPP</b>	bisphenol P	bisfenol P
<b>BPZ</b>	bisphenol Z	bisfenol Z
<b>BPFL</b>	bisphenol FL	bisfenol FL
<b>BPBP</b>	bisphenol BP	bisfenol BP
<b>BSA</b>	body surface area	powierzchnia ciała
<b>EDC</b>	endocrine disruptor	związek endokrynnie czynny
<b>ETA</b>	European Thyroid Association	Europejskie Towarzystwo Tyreologiczne
<b>ft4</b>	free thyroxine	wolna tyroksyna
<b>L-T4</b>	levothyroxine	lewotyroksyna
<b>PTE</b>	Polish Society of Endocrinology	Polskie Towarzystwo Endokrynologiczne
<b>T3</b>	triiodothyronine	trójjodotyronina
<b>T4</b>	thyroxine	tyroksyna
<b>TGAb</b>	thyroglobulin antibodies	przeciwciała przeciw tyreoglobulinie
<b>TPOAb</b>	thyroid peroxidase antibodies	przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej
<b>TRH</b>	thyrotropin-releasing hormone	tyreoliberyna
<b>TSH</b>	thyroid-stimulating hormone	tyreotropina



## **2. „Mała tarczyca” jako czynnik predykcyjny występowania niedoczynności tarczycy o etiologii innej niż autoimmunizacyjna u kobiet w wieku rozrodczym – ocena wpływu bisfenolu A i jego analogów – Streszczenie**

Niedoczynność tarczycy to zespół objawów klinicznych wywołanych niedoborem tyroksyny (T<sub>4</sub>) i wynikającym z tego niedostatecznym działaniem trójjodotyroniny w komórkach ustroju, prowadzącym do uogólnionego spowolnienia procesów metabolicznych. Najczęstszą przyczyną pierwotnej niedoczynności tarczycy u dorosłych jest przewlekłe autoimmunizacyjne zapalenie tarczycy. Do innych czynników zalicza się m.in.: pooperacyjną niedoczynność tarczycy, stan po leczeniu radiojodem, polekową niedoczynność tarczycy. Odrębną grupę stanowią osoby, u których nie stwierdza się obecności przeciwciał przeciw tarczycowym oraz innych jednoznacznych przyczyn niedoczynności tarczycy. Wydaje się, że jedną z możliwych przyczyn niedoczynności tarczycy w tej grupie stanowi zbyt mała objętość gruczołu tarczowego („mała tarczyca”). Wówczas w badaniu ultrasonograficznym (USG) tarczycy stwierdza się prawidłową jednorodną echogeniczność mięszu, w przeciwieństwie do autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy, gdzie miąższ tarczycy jest hipoechogeniczny i niejednorodny. Czynniki mogące prowadzić do rozwoju niedoczynności tarczycy są związki endokrynnie czynne, a wśród nich bisfenole. Ich powszechne występowanie stwarza ryzyko pojawienia się niedoczynności tarczycy u osób bez czynników obciążających (jak np. autoimmunizacyjne zapalenie tarczycy). Jedną z takich grup są kobiety w wieku rozrodczym. Niedoczynność tarczycy ma negatywny wpływ na płodność, przebieg ciąży oraz zdrowie potomstwa. Dlatego też istotna jest świadomość występowania innego czynnika, poza autoimmunizacyjnym zapaleniem tarczycy, mogącego wpływać negatywnie na czynność tarczycy. Wczesne rozpoznanie i odpowiednie leczenie jest niezwykle istotne w grupie kobiet w okresie rozrodczym, szczególnie planujących ciążę bądź będących w ciąży.

Badania realizowane w ramach niniejszej pracy doktorskiej miały na celu: (i) analizę związku pomiędzy objętością tarczycy a laboratoryjnymi parametrami funkcji tarczycy u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy, (ii) próbę wyznaczenia dolnej granicy normy objętości tarczycy – zdefiniowanie pojęcia „mała tarczyca”, (iii) ustalenie częstości występowania obniżenia objętości tarczycy oraz niedoczynności tarczycy u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy, (iv) analizę związku pomiędzy narażeniem na bisfenol A (BPA) i jego 10

analogów (BPS, BPC, BPE, BPF, BPG, BPM, BPP, BPZ, BPFL, BPBP) a funkcją i objętością tarczycy, (v) podsumowanie dotychczasowej wiedzy na temat wpływu BPA i jego analogów na gruczoł tarczowy.

Prace wchodzące w skład cyklu publikacji tworzą spójną całość opisującą problem występowania „małych tarczyc” u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy oraz możliwego wpływu BPA i jego analogów na rozwój niedoczynności tarczycy.

W pracy nr 1 zbadano związek pomiędzy objętością tarczycy a tyreotropiną (TSH). Podjęto również próbę wyznaczenia dolnej granicy normy dla objętości tarczycy u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy – zdefiniowanie pojęcia „mała tarczyca”. Ponadto przedstawiono częstość występowania „małej tarczycy” oraz niedoczynności tarczycy u młodych kobiet bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy. Udowodniono ujemną korelację pomiędzy objętością tarczycy a stężeniem TSH. Dowiedziono, że objętość tarczycy  $<9$  ml stanowi istotny statystycznie czynnik predykcyjny występowania stężenia TSH  $>2.5$   $\mu$ IU/ml u młodych kobiet bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy. „Mała tarczyca” dotyczyła ok. 40% badanych kobiet. Oznacza to, że „mała tarczyca” stanowi dość częsty problem u młodych kobiet, a USG tarczycy przed planowaną ciążą jest cennym dodatkowym narzędziem w diagnostyce kobiet szczególnie narażonych na rozwój niedoczynności tarczycy w ciąży. Badanie to jest jak dotychczas jedynym, w którym podjęto próbę wyznaczenia dolnej granicy normy objętości tarczycy w grupie kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy. Częstość występowania podwyższonego stężenia TSH u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy wynosiła 29% (dla TSH  $>2.5$   $\mu$ IU/ml) oraz 4% (dla TSH  $>4.2$   $\mu$ IU/ml).

W pracy nr 2 przeanalizowano związek pomiędzy objętością i funkcją tarczycy a narażeniem na bisfenol A i jego analogi, jako szeroko rozpowszechnione czynniki środowiskowe mogące prowadzić do zmniejszenia objętości tarczycy, a w konsekwencji do rozwoju niedoczynności tarczycy u młodych kobiet. Udowodniono, że tarczycy o małej objętości występują częściej u kobiet narażonych na działanie BPC. Ekspozycja na BPC wiąże się również z częstszym podwyższeniem stężenia TSH  $>2.5$   $\mu$ IU/ml. Nie stwierdzono związku pomiędzy narażeniem na BPA ani pozostałe jego analogi a objętością i funkcją tarczycy. Najprawdopodobniej istotny wpływ BPC jako jedyne z badanych analogów BPA wynika z wyjątkowej budowy chemicznej BPC, dzięki czemu ten analog najbardziej przypomina T4. Jest to pierwsze badanie, w którym tak kompleksowo przeanalizowano

wpływ BPA i jego analogów na funkcję i objętość tarczycy u nieciężarnych kobiet w wieku rozrodczym.

W pracy nr 3 podsumowano dotychczasową wiedzę na temat wpływu BPA i jego analogów na gruczoł tarczowy. Wyniki badań nad związkiem BPA i jego analogów na objętość i funkcję tarczycy są sprzeczne, i zależne od projektu badania oraz wykorzystanych metod. Prawdopodobnie analogi BPA wykazują bardziej szkodliwy efekt na gruczoł tarczowy niż sam BPA.

Podsumowując, „mała tarczyca” niezwiązana z autoimmunizacyjnym zapaleniem tarczycy stanowi jedną z prawdopodobnych przyczyn niedoczynności tarczycy. Potencjalny negatywny wpływ na tarczycę i rozwój jej niedoczynności mają związki endokrynnie czynne. Przeprowadzone badanie wykazało taki wpływ BPC, jednego z analogów BPA. Związki endokrynnie czynne, w tym BPA i jego analogi występują powszechnie w otoczeniu człowieka i kontakt z nimi jest nieunikniony. Skala zjawiska może ulec nasileniu pomimo prowadzonych działań proekologicznych. Obecność nieleczonej niedoczynności tarczycy u ciężarnych związana jest z ryzykiem powikłań ze strony matki i płodu. Brak jest jednolitych rekomendacji dotyczących postępowania u kobiety planującej ciążę lub będącej w ciąży. Różnią się one w zależności od kraju, towarzystwa endokrynologicznego, ginekologicznego, aktualności zaleceń. Na podstawie przedstawionych badań wydaje się, że proponowane przez niektóre towarzystwa oznaczenie stężenia TSH jedynie w grupie o podwyższonym ryzyku występowania niedoczynności tarczycy (np. z obciążeniami w kierunku chorób autoimmunizacyjnych) nie wykrywa niedoczynności tarczycy powstałej w wyniku działania związków endokrynnie czynnych. Warto rozważyć poza obligatoryjnym, rutynowym wykonaniem oznaczenia stężenia TSH u kobiety planującej ciążę i będącej w ciąży także wykonanie badania USG tarczycy. Stwierdzenie „małej tarczycy” w okresie planowania ciąży może wiązać się ze zwiększonym ryzykiem niedoczynności tarczycy i prawdopodobnie z koniecznością monitorowania stężenia TSH w okresie planowanej ciąży.

### **3. "Small thyroid gland" as a predictive factor for a non – autoimmune hypothyroidism in women of reproductive age – evaluation of the influence of bisphenol A and its analogs – Summary**

Hypothyroidism is a group of clinical symptoms caused by a deficiency of thyroxine (T4) and the resulting insufficient action of triiodothyronine in the cells of the organism, leading to a generalized slowdown of metabolic processes. The most common cause of primary hypothyroidism in adults is chronic autoimmune thyroiditis. Other factors include: postoperative hypothyroidism, radioiodine treatment, drug-induced hypothyroidism. A separate group consists of people who do not have the presence of anti-thyroid antibodies or other known causes of hypothyroidism. It seems that one of the possible causes of hypothyroidism in this group is that the volume of the thyroid gland is small ("small thyroid gland"). Ultrasound examination (USG) of the thyroid gland shows normal, homogeneous echogenicity. In contrast in autoimmune thyroiditis, the thyroid is hypoechoic and heterogeneous. One of the probable causes leading to the development of hypothyroidism are endocrine disruptors, including bisphenols. Their widespread occurrence creates a risk of hypothyroidism in people without aggravating factors (such as autoimmune thyroiditis). In women of childbearing age hypothyroidism has a negative impact on fertility, pregnancy and the health of the offspring. Therefore, it is important to be aware of the presence of any factors, apart from autoimmune thyroiditis, that may have a negative impact on thyroid function. Early diagnosis and appropriate treatment are extremely important in this group, especially in women planning pregnancy or being pregnant.

The studies carried out as part of this doctoral dissertation were aimed at: (i) analyzing the relationship between the thyroid volume and laboratory parameters of thyroid function in women of reproductive age without autoimmune thyroiditis, (ii) an attempt to determine the lower limit of the normal thyroid volume - defining the term "small thyroid gland", (iii) determining the frequency of "small thyroid gland" and hypothyroidism in women of reproductive age without autoimmune thyroiditis, (iv) analyzing of the relationship between exposure to bisphenol A (BPA) and its 10 analogues (BPS, BPC, BPE, BPF, BPG, BPM, BPP, BPZ, BPFL, BPBP) and the function and volume of the thyroid gland, (v) summarizing of current knowledge on the impact of BPA and its analogues on the thyroid gland.

This doctoral dissertation includes the series of three thematically consistent articles, describing the problem of the presence of "small thyroid gland" in women of

reproductive age without autoimmune thyroiditis and the influence of BPA and its analogues on the development of hypothyroidism.

The first study investigated the relationship between the volume of the thyroid gland and thyrotropin (TSH). An attempt was also made to determine the lower limit of the thyroid volume in women of reproductive age without autoimmune thyroiditis - defining the term "small thyroid gland". In addition, the prevalence of "small thyroid gland" and hypothyroidism in young women without autoimmune thyroiditis is presented. There was a negative correlation between the volume of the thyroid gland and TSH. Thyroid volume <9 ml was found to be a statistically significant predictor of TSH >2.5  $\mu$ IU/ml in young women without autoimmune thyroiditis. "Small thyroid gland" concerned about 40% of the examined women. This means that the "small thyroid gland" is a fairly common problem in young women and the ultrasound of the thyroid gland before planned pregnancy is a valuable additional tool in the diagnosis of women particularly at risk of developing hypothyroidism in pregnancy. This study is so far the only one that has attempted to determine the lower limit of normal thyroid volume in a group of women of reproductive age without autoimmune thyroiditis. Depending on the accepted standards, the incidence of elevated TSH in women of reproductive age without autoimmune thyroiditis was 29% (for TSH >2.5  $\mu$ IU/ml) and 4% (for TSH >4.2  $\mu$ IU/ml).

In the second study there was analyzed the relationship between the volume and function of the thyroid gland and exposure to BPA and its analogues. There are many widespread environmental factors that can lead to a reduction in the volume of the thyroid gland and, consequently, to the development of hypothyroidism in young women. It has been shown that low-volume thyroid glands are more common in women exposed to BPC. BPC exposure is also associated with a more frequent increase in TSH >2.5  $\mu$ IU/ml. There was no association between exposure to BPA or other analogues and the volume and function of the thyroid gland. Most probably, the significant influence of BPC as the only one of the tested BPA analogues is due to the unique chemical structure of BPC that most resembles T4. This is the first study that comprehensively analyzed the effect of BPA and its analogues on the function and volume of the thyroid gland in non-pregnant women of reproductive age.

The third study summarizes the current knowledge about the influence of BPA and its analogues on the thyroid gland. The results of research on BPA and its analogues on the volume and function of the thyroid gland are contradictory and dependent on the study design and methods used. It is likely that BPA analogues have a more damaging effect on the thyroid gland than BPA itself.

In conclusion, the "small thyroid gland" unrelated to autoimmune thyroiditis is one of the possible causes of hypothyroidism. Endocrine disruptors have a potential negative impact on the thyroid gland and may lead to the development of hypothyroidism. The conducted study showed such an effect of BPC, one of the BPA analogues. Endocrine disruptors, including BPA and its analogues, are common in the human environment and contact with them is unavoidable. The scale of the phenomenon may intensify despite pro-ecological activities. The presence of untreated hypothyroidism in pregnant women is associated with the risk of complications for the mother and the fetus. There are no universal recommendations regarding the management of a woman planning pregnancy or being pregnant. They differ depending on the country, endocrinology and gynecology societies, and the update of recommendations. On the basis of the presented studies, it seems that the determination of TSH proposed by some societies only in the group with an increased risk of hypothyroidism (e.g. with autoimmune diseases) does not detect hypothyroidism caused by the action of endocrine disruptors. Apart from the obligatory, routine TSH measurement, it is worth considering the thyroid USG examination in women planning pregnancy or being pregnant. Diagnosis of "small thyroid gland" when planning pregnancy may be associated with an increased risk of hypothyroidism creating the need to monitor TSH during the planned pregnancy.

## 4. Wstęp

### 4.1. Definicja niedoczynności tarczycy

Niedoczynność tarczycy (hipotyreoza) to zespół objawów klinicznych wywołanych niedoborem tyroksyny (T4) i wynikającym z tego niedostatecznym działaniem trójjodotyroniny (T3) w komórkach ustroju, prowadzącym do uogólnionego spowolnienia procesów metabolicznych (1).

### 4.2. Klasyfikacja niedoczynności tarczycy

W zależności od miejsca uszkodzenia prowadzącego do niedostatecznej syntezy i wydzielania hormonów tarczycy wyróżnia się następujące postaci niedoczynności tarczycy:

- pierwotną – gdy dochodzi do uszkodzenia gruczołu tarczowego (najczęstsza postać stanowiąca około 99% przypadków). Pierwotna niedoczynność tarczycy może występować jako postać jawna lub subkliniczna.
- wtórną – gdy dochodzi do uszkodzenia przysadki, a w konsekwencji do niedoboru wydzielania tyreotropiny (TSH)
- trzeciorzędową – gdy dochodzi do braku lub niedostatecznego wytwarzania podwzgórzowej tyreoliberyny (TRH)

### 4.3. Epidemiologia niedoczynności tarczycy

Niedoczynność tarczycy dotyczy 4-5 razy częściej kobiet niż mężczyzn. Rozpoznaje się ją u 1-6% osób do 60 r.ż., a częstość jej występowania zwiększa się z wiekiem (1-3). Wrodzona niedoczynność tarczycy występuje z częstością 1:3500-1:4000 żywych urodzeń (3). U kobiet w wieku rozrodczym subkliniczna niedoczynność tarczycy rozpoznawana jest u 1.5% do 42.9% osób, a jawna niedoczynność tarczycy u 2% do 3% (2, 4, 5). Duża rozpiętość danych wynika z różnic przyjętej górnej granicy normy dla stężenia TSH oraz rejonu geograficznego.

### 4.4. Etiologia pierwotnej niedoczynności tarczycy

Najczęstszą przyczyną pierwotnej niedoczynności tarczycy u dorosłych jest przewlekłe autoimmunizacyjne zapalenie tarczycy (1, 3, 6). Szacuje się, że przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (TPOAb) występują w populacji kobiet w wieku rozrodczym od 2 do 20% (6, 7). Do innych czynników zalicza się m.in.: pooperacyjną niedoczynność tarczycy, stan po leczeniu radiojodem, polekową niedoczynność tarczycy (tyreostatyki, amiodaron, związki litu, interferon  $\alpha$ , nitroprusydek sodu, fenytoinę,

inhibitory kinaz tyrozynowych), wrodzoną agenezję tarczycy, podostre zapalenie tarczycy, niedobór jodu, napromienianie okolicy szyi (1, 4, 8).

U niektórych kobiet z rozpoznaną na podstawie badań laboratoryjnych subkliniczną bądź jawną niedoczynnością tarczycy nie udaje się ustalić etiologii choroby. Wydaje się, że jedną z możliwych przyczyn niedoczynności tarczycy u kobiet bez obecnych przeciwciał przeciwtarczycowych oraz innych zdefiniowanych przyczyn, stanowi gruczoł tarczowy o zbyt małej objętości („mała tarczycza”) (9). W badaniu ultrasonograficznym (USG) tarczycy stwierdza się prawidłową jednorodną echogeniczność mięszu, w przeciwieństwie do autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy, gdzie mięsz tarczycy jest hipoechogeniczny i niejednorodny.

#### **4.5. Obraz kliniczny niedoczynności tarczycy**

##### **4.5.1. Obraz kliniczny niedoczynności tarczycy w ogólnej populacji**

Objawy niedoczynności tarczycy zależą od wieku pacjenta oraz tempa rozwoju choroby. W przypadku niedoczynności tarczycy w przebiegu wolno postępującego przewlekłego autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy objawy narastają niepostrzeżenie i stopniowo przez wiele miesięcy. Z kolei w pooperacyjnej niedoczynności tarczycy bez odpowiedniego leczenia substytucyjnego charakterystyczne objawy pojawiają się szybko, w ciągu 1-2 miesięcy (3).

Do objawów podmiotowych niedoczynności tarczycy należą: przyrost masy ciała, stałe uczucie zmęczenia, zaburzenia pamięci, uczucie zimna, zaparcia, zaburzenia koncentracji (1).

Objawy przedmiotowe jawnej i nieleczonej niedoczynności tarczycy obserwuje się przy badaniu praktycznie każdego układu (1):

- skóra i jej przydatki: skóra sucha, zimna, blada, obrzęk śluzowaty, łamliwe i suche włosy, nadmierne wypadanie włosów
- układ sercowo – naczyniowy: bradykardia, hipotonia, płyn w osierdziu, powiększenie sylwetki serca
- układ oddechowy: ochrypy i matowy głos, spłycenie i zmniejszenie częstości oddechów,
- układ pokarmowy: zaparcia, wodobrzusze
- układ moczowo-płciowy: obrzęk tkanek wskutek zmniejszonego wydalania wody, zaburzenia cyklu menstruacyjnego, obniżenie libido



- układ nerwowy: osłabienie odruchów, parestezje, mononeuropatie, ośpienie
- układ ruchu: zmniejszenie siły mięśniowej, łatwa męczliwość, obrzęk stawów

#### **4.5.2. Obraz kliniczny niedoczynności tarczycy u kobiet ciężarnych**

Obraz kliniczny niedoczynności tarczycy w ciąży jest niecharakterystyczny. Objawy choroby takie jak przyrost masy ciała, osłabienie, uczucie zmęczenia czy obrzęki imitują objawy samej ciąży (10). Zarówno jawna jak i subkliniczna niedoczynność tarczycy mogą prowadzić do przedwczesnego odwarstwienia łożyska, przedwczesnego porodu, stanu przedrzucawkowego lub do poronienia (11-13). Niedoczynność tarczycy u matki może przyczynić się do zaburzeń wewnątrzmacicznego wzrostu, niskiej masy urodzeniowej lub opóźnienia rozwoju umysłowego płodu (11-14). Dlatego też bardzo ważne jest wczesne rozpoznanie niedoczynności tarczycy i odpowiednie leczenie rozpoczęte optymalnie jeszcze przed zajściem w ciążę (10).

#### **4.6. Rozpoznanie pierwotnej niedoczynności tarczycy**

Do rozpoznania niedoczynności tarczycy niezbędne jest wykonanie badań laboratoryjnych z surowicy. Jawną niedoczynność tarczycy rozpoznaje się przy podwyższeniu stężenia TSH z jednoczesnym obniżeniem stężenia wolnej tyroksyny (fT4), a subkliniczną niedoczynność tarczycy przy podwyższeniu stężenia TSH i prawidłowym stężeniu fT4 (6, 15).

Według ostatnich wytycznych Amerykańskiego Towarzystwa Tyreologicznego (American Thyroid Association; ATA) z 2017 r. jako wartości referencyjne stężenia TSH u kobiet ciężarnych zaleca się przedziały ustalone dla danej populacji kobiet w wieku rozrodczym odrębnie dla każdego trymestru ciąży (6). Jeżeli jest to niemożliwe, wówczas preferowanym punktem odcięcia stężenia TSH dla rozpoznania niedoczynności tarczycy w ciąży jest  $<4.0$  mU/l. Zalecenia dotyczące górnej granicy stężenia TSH dla kobiet w ciąży są jednak różne w zależności od kraju, w którym zostały stworzone oraz towarzystw endokrynologicznych i ginekologicznych, które je publikują. Według aktualnie obowiązujących wytycznych Polskiego Towarzystwa Endokrynologicznego (PTE) z 2011 r., Europejskiego Towarzystwa Tyreologicznego (European Thyroid Association; ETA) z 2014 r. oraz poprzednich wytycznych ATA z 2011 r. górna granica normy dla

stężenia TSH w ciąży wynosi  $<2.5$  mU/l w pierwszym trymestrze oraz  $<3.0 - 3.5$  mU/l w drugim i trzecim trymestrze (10, 16, 17).

Dodatkowo celem ustalenia etiologii niedoczynności tarczycy należy oznaczyć poziom przeciwciał przeciw tyreoglobulinie (TGAb) i TPOAb oraz wykonać badanie USG tarczycy z oceną objętości, echogeniczności i echostruktury gruczołu tarczowego (10).

Różnorodność definicji subklinicznej niedoczynności tarczycy w ciąży, norm stężenia TSH w kolejnych trymestrach ciąży oraz rekomendacji diagnostycznych i terapeutycznych dla kobiet planujących ciążę i w ciąży jest przyczyną prowadzenia badań w tej grupie kobiet celem ustalenia optymalnego sposobu postępowania u kobiety ciężarnej.

#### **4.7. Leczenie pierwotnej niedoczynności tarczycy**

Niezależnie od przyczyny niedoczynności tarczycy leczeniem z wyboru jest suplementacja soli sodowej lewoskrętnej tyroksyny (lewotyroksyny, L-T4) (1). Dobową dawkę leku ustala się indywidualnie dla każdego chorego. Zwykle leczenie rozpoczyna się od małej dawki, zwiększając ją stopniowo, aż do osiągnięcia optymalnej dawki.

U kobiet ciężarnych zaleca się rozpoczęcie leczenia L-T4 od początku w pełnej dawce (nie jest wskazane rozpoczynanie od małej dawki leku i stopniowe jej zwiększanie) (1).

#### **4.8. Czynniki wpływające na objętość tarczycy**

Średnia objętość tarczycy różni się w zależności od rejonu geograficznego (18-20). W związku z tym istnieje potrzeba wyznaczenia norm objętości tarczycy dla poszczególnych populacji. Górna granica normy dla dorosłych kobiet wynosi 18-20 ml, a dla mężczyzn 25 ml. Jak dotąd nie wyznaczono dolnej granicy objętości tarczycy. W dostępnej literaturze udowodniono, że objętość tarczycy zależy od: wieku, wzrostu, masy ciała, wskaźnika masy ciała (BMI) oraz powierzchni ciała (BSA) (18, 19, 21). Opisywano również inne czynniki warunkujące wielkość gruczołu tarczowego, takie jak: tło genetyczne, pochodzenie, czynniki środowiskowe [palenie papierosów, sposób odżywiania, spożycie jodu, promieniowanie elektromagnetyczne, bisfenol A (BPA)] (19, 22, 23).

#### **4.9. Wpływ bisfenolu A i jego analogów na funkcję i objętość tarczycy**

Coraz częściej pojawiają się dane na temat wpływu związków endokrynnie czynnych (EDC) na ludzi. EDC to egzogenne substancje posiadające zdolność do interakcji z układem hormonalnym człowieka (24, 25). Jednym z takich związków jest BPA (4,4'-dihydroksy-2,2-difenylopropan). BPA jest substancją powszechnie rozpowszechnioną na całym świecie, głównie przy wytwarzaniu plastikowych produktów (np. butelek, zabawek, gryzaków dla dzieci), ale również jako składnik żywic epoksydowych, szczeliw dentystycznych czy papieru termicznego (26-30). Na skutek licznych doniesień odnośnie negatywnego wpływu na zdrowie po ekspozycji na BPA związek ten został zabroniony przez międzynarodowe władze do produkcji materiałów przeznaczonych do kontaktu z żywnością bądź małymi dziećmi, szczególnie niemowlętami. Z tego powodu zaczęto wprowadzać do przemysłu liczne analogi strukturalne BPA, uważane za potencjalnie bezpieczniejszą alternatywę. Jednak wiedza na temat wpływu analogów BPA na ludzi i środowisko jest aktualnie bardzo ograniczona. Jest to tym bardziej niepokojące z uwagi na fakt różnorodności dróg ekspozycji na bisfenole, mianowicie: doustną, przezskórną oraz wziewną (30).

Najlepiej przebadanym bisfenolem jest BPA, który ma udowodniony niekorzystny wpływ na rozwój: estrogenozależnych nowotworów (31, 32), zaburzeń metabolicznych (cukrzyca, otyłość, insulinooporność) (33), zespołu policystycznych jajników (34), zaburzeń neurobehawioralnych (35-37). Udokumentowano również negatywny wpływ BPA na funkcję tarczycy, jednak większość badań została przeprowadzona *in vitro* (38, 39) lub na modelach zwierzęcych (40-42). Badania na ludziach dotyczyły kobiet ciężarnych oraz dzieci (43-46). Dane na temat wpływu bisfenoli na tarczycę są sprzeczne. Jedne udowadniają agonistyczny wpływ na receptory dla hormonów tarczycy (TR) (47), podczas gdy inne wskazują na działanie antagonistyczne (40, 41). Dotychczas nie analizowano wpływu BPA i jego analogów na funkcję i objętość tarczycy u nieciężarnych kobiet w wieku rozrodczym.

#### **4.10. Uzasadnienie połączenia prac w cykl publikacji**

Prace wchodzące w skład cyklu publikacji tworzą spójną całość naświetlając problem występowania „małych tarczyc” u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy oraz wpływu BPA i jego analogów na rozwój niedoczynności tarczycy.

W **pracy nr 1** zbadano związek pomiędzy objętością tarczycy a stężeniem TSH. Podjęto również próbę wyznaczenia dolnej granicy normy dla objętości tarczycy u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy – zdefiniowanie pojęcia „mała tarczyca”. Ponadto przedstawiono częstość występowania „małej tarczycy” oraz niedoczynności tarczycy u młodych kobiet bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy.

W **pracy nr 2** przeanalizowano związek pomiędzy objętością i funkcją tarczycy a narażeniem na BPA i jego analogi, jako szeroko rozpowszechnione czynniki środowiskowe mogące prowadzić do zmniejszenia objętości tarczycy, a w konsekwencji do rozwoju niedoczynności tarczycy u młodych kobiet.

W **pracy nr 3** podsumowano dotychczasową wiedzę na temat wpływu BPA i jego analogów na gruczoł tarczowy.

### **5. Założenia i cel pracy**

#### **5.1. Założenia pracy**

Główną przyczyną pierwotnej niedoczynności tarczycy jest przewlekłe autoimmunizacyjne zapalenie tarczycy. Wśród innych etiologii wyróżnia się m.in. stan po operacji tarczycy oraz leczenie jodem radioaktywnym. Odrębną grupę stanowią osoby, u których nie stwierdza się obecności przeciwciał przeciw tarczycowym oraz innych jednoznacznych przyczyn niedoczynności tarczycy. Bisfenole jako związki endokrynnie czynne powszechnie występujące w środowisku stanowią jedną z prawdopodobnych przyczyn prowadzących do rozwoju niedoczynności tarczycy. Jest to szczególnie istotne w grupie kobiet w wieku rozrodczym, ponieważ niedoczynność tarczycy w tym okresie może negatywnie wpływać na płodność, przebieg ciąży i zdrowie płodu.

## 5.2. Cel pracy

Badania realizowane w ramach niniejszej pracy doktorskiej miały na celu:

- i. analizę związku pomiędzy objętością tarczycy a laboratoryjnymi parametrami funkcji tarczycy u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy
- ii. próbę wyznaczenia dolnej granicy normy objętości tarczycy – zdefiniowanie pojęcia „mała tarczyca”
- iii. ustalenie częstości występowania obniżenia objętości tarczycy oraz niedoczynności tarczycy u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy
- iv. analizę związku pomiędzy narażeniem na BPA i jego 10 analogów [bisfenol S (BPS), bisfenol C (BPC), bisfenol E (BPE), bisfenol F (BPF), bisfenol G (BPG), bisfenol M (BPM), bisfenol P (BPP), bisfenol Z (BPZ), bisfenol FL (BPFL), bisfenol BP (BPBP)] a funkcją i objętością tarczycy u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy
- v. podsumowanie dotychczasowej wiedzy na temat wpływu BPA i jego analogów na gruczoł tarczowy

## **6. Prace tworzące cykl publikacji**

Rozdziały 6.1-6.3 stanowią odrębne publikacje z osobną bibliografią na zakończenie każdej z nich.

**6.1. "Small thyroid gland" in reproductive women without autoimmune thyroid disease-ultrasonographic evaluation as a useful screening tool for hypothyroidism**



Article

# “Small Thyroid Gland” in Reproductive Women without Autoimmune Thyroid Disease—Ultrasonographic Evaluation as a Useful Screening Tool for Hypothyroidism

Justyna Milczarek-Banach and Piotr Miśkiewicz \*

Department of Internal Medicine and Endocrinology, Medical University of Warsaw, Banacha 1a, 02-097 Warsaw, Poland; justyna.banach@uckwum.pl

\* Correspondence: piotr.miskiewicz@wum.edu.pl; Tel.: +48-22-599-2975

**Abstract:** Proper thyroid function is important for women of childbearing age, as hypothyroidism affects fertility, pregnancy and offspring. The upper reference limit for thyrotropin (TSH) in pregnancy was defined as  $<2.5$  mU/L in the first trimester. Recommendations include either universal screening of TSH before pregnancy, or identifying individuals at “high risk” for thyroid illness. “Small thyroid gland” not associated with autoimmune thyroid disease (AITD) seems to be a reason for hypothyroidism and probably should be included in target case finding procedure before pregnancy. The purpose of this cross-sectional study was to analyze relationships between the thyroid volume and its function, and to determine the thyroid volume as a predictive factor for TSH levels above  $2.5$   $\mu$ IU/mL in reproductive women without AITD. We included 151 women without AITD, and aged 18–40. Blood and urine samples were analyzed for parameters of thyroid function. Ultrasound examination of the thyroid was performed. The thyroid volume was negatively correlated with TSH. Women with a thyroid volume in the 1st quartile for the study population presented higher TSH levels versus women in the 4th quartile ( $p = 0.0132$ ). A thyroid volume cut-off point of 9 mL was the predictive factor for TSH levels above  $2.5$   $\mu$ IU/mL ( $p = 0.0037$ ).

**Keywords:** thyroid volume; hypothyroidism; thyrotropin; reproduction; women; small thyroid gland



**Citation:** Milczarek-Banach, J.; Miśkiewicz, P. “Small Thyroid Gland” in Reproductive Women without Autoimmune Thyroid Disease—Ultrasonographic Evaluation as a Useful Screening Tool for Hypothyroidism. *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 1828. <https://doi.org/10.3390/jcm10091828>

Academic Editor: Aviram Mizrahi

Received: 4 March 2021

Accepted: 17 April 2021

Published: 22 April 2021

**Publisher’s Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Proper functioning of a thyroid gland is essential for maintenance of hormonal homeostasis in human beings. Euthyroidism is especially important for women of reproductive age, as hypothyroidism affects fertility, pregnancy outcomes, and the health of offspring. Subclinical and overt hypothyroidism in pregnancy may lead to preeclampsia, premature delivery, premature abruption of the placenta and miscarriage [1–3]. Maternal hypothyroidism can cause disturbances of intrauterine growth of the offspring, low birth weight and the retardation of neural development of the fetus [1–3]. According to the American Thyroid Association guidelines for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum from 2011; and the European Thyroid Association guidelines for the management of subclinical hypothyroidism in pregnancy and in children from 2014; the upper reference limit for thyrotropin (TSH) in pregnancy was defined as  $<2.5$  mU/L in the first trimester, and  $<3.0$ – $3.5$  mU/L in the second and third trimesters [4,5]. Recommendations given by different endocrine societies include either universal screening of TSH before pregnancy, or identifying individuals at “high risk” for thyroid illness [4–6]. “Small thyroid gland” not associated with autoimmune thyroid disease (AITD), seems to be the reason for hypothyroidism in some patients [7]. It is worth considering including women with “small thyroid gland” in target case finding procedure before pregnancy.

Several studies have reported that the thyroid volume depends on: age, weight, height, body mass index (BMI) or body surface area (BSA) [8–10]. Of course, the thyroid volume could not be entirely explained by anthropometric measurements. It is also determined by



other factors, such as ethnicity, genetic background and environmental factors (smoking, nutrition, iodine intake) [10–13]. These could be the reasons for the variations of the results in different geographic areas [8–10,14]. Therefore, the authors of the previous reports suggested the need for population-specific references.

The aim of this study was to analyze the potential relationships between the thyroid volume and the laboratory parameters of thyroid function. Moreover, the purpose of this study was to determine the lower reference limit for the thyroid volume in women of childbearing age without AITD, living in Warsaw, Poland.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Patients

This cross-sectional study was performed in the Department of Internal Medicine and Endocrinology, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland, in the period between October 2017 and May 2019. After providing written informed consent to participate, we included women aged 18–40 years in the study. Women were excluded from the study if they fulfilled at least one of the following criteria: (i) documented history of any thyroid disease (hypothyroidism, hyperthyroidism, thyroid nodules, autoimmune thyroid disease); (ii) pharmacotherapy influencing the thyroid function (especially medicines consisting of: iodine, antithyroid drugs, levothyroxine, selenium); (iii) positive thyroid peroxidase antibodies (TPOAb) and/or thyroglobulin antibodies (TGAAb) during this study; (iv) hypoechoic—inhomogenous thyroid gland in ultrasound; (v) pregnancy or puerperium. In total, 151 women were recruited into the study. Basal characteristics of the participants are presented in Table 1.

**Table 1.** Characteristics of the study population ( $n = 151$ ).

Characteristics	Mean $\pm$ SD or $n$ (%)
Age (years)	24 $\pm$ 3
Thyroid volume (mL)	10.2 $\pm$ 3.2
Presence of thyroid focal lesions	46 (30)
TSH ( $\mu$ IU/mL) (normal range: 0.27–4.2)	2.1 $\pm$ 0.9
TSH > 4.2 $\mu$ IU/mL	6 (4)
TSH > 2.5 $\mu$ IU/mL	44 (29)
fT4 (pmol/L) (normal range: 12–22)	16.2 $\pm$ 2.2
ioduria ( $\mu$ g/L) (normal range: 100–300)	121.3 $\pm$ 108.5
I/CR	88.1 $\pm$ 111.4
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21.1 $\pm$ 2.8
Smoking	
current	16 (11)
former	38 (25)
never	97 (64)

BMI—body mass index; fT4—free thyroxine; I/CR—ioduria per g creatinine;  $n$ —number; SD—standard deviation; TSH—thyrotropin.

### 2.2. Laboratory Measurements

Venous blood was drawn from all the study participants, in the morning, after overnight fasting (>8 h). After 30 min of incubation at room temperature, the blood samples were centrifuged for 15 min (2500 rpm). Then, serum samples were frozen and stored vertically at  $-70$  °C for further analyses.

TSH, free thyroxine (fT4), TPOAb and TGAAb were measured in serum samples using an electrochemiluminescence immunoassay (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) on a Cobas e411 Analyzer (Hitachi, Tokyo, Japan), in the Scientific Laboratory at the Department of Internal Medicine and Endocrinology, Medical University of Warsaw. Serum TPOAb and TGAAb >34 IU/mL and >115 IU/mL respectively, were considered as “positive”.

Moreover, each study participant brought a 100 mL sample of midstream morning urine for the measurement of urinary iodine and creatinine. Urine iodine concentrations

were estimated by the catalytic arsenium-cerium method based on Sandell–Kolthoff reaction [15]. Urinary creatinine was measured by colorimetric Jaffe method [16].

### 2.3. Ultrasound of the Thyroid

Ultrasound of the thyroid gland was conducted using a Hitachi Avius Medical ultrasound technique system equipped with the 3–15 MHz high frequency linear array transducer. Thyroid ultrasound procedures were done on the basis of the Ultrasound Examination Standards of the Polish Ultrasound Society and American College of Radiology Guidelines [17,18]. Participants were lying in a supine position with the neck hyperextended. Thyroid volume was calculated with a simplified formula for the volume of a spheroid [17]:  $V = 0.5 \times W \times H \times L$ , where V—volume of the lobe, 0.5—simplified coefficient, W—width, H—height and L—length. The total thyroid volume was obtained by combining the volumes of left and right lobes. The isthmus was not taken into account. All ultrasonographic examinations were performed and interpreted by the same physician with 5-years of experience (JMB).

### 2.4. Study Design

The analysis of these data was performed in the following steps:

- Analysis of the relationship between the thyroid volume and the thyroid function [TSH, fT4, ioduria, ioduria/creatinine (I/CR)].
- Determination of the lower reference limit for the thyroid volume, for estimating if the level of TSH is  $>2.5 \mu\text{IU/mL}$ .

### 2.5. Statistical Analysis

Distributions of the variables were estimated using the Shapiro–Wilk test. Continuous variables were demonstrated as arithmetic means  $\pm$  standard deviation (SD). Categorical data were shown as numbers and percentage values (%). Correlations between the continuous data (thyroid volume, TSH, fT4, ioduria, I/CR) were calculated with the Spearman correlation coefficient or Pearson correlation test. Additionally, the multivariate linear regression was performed. Comparisons of continuous data (thyroid volume, TSH, fT4, ioduria, I/CR) in two independent groups of participants (with thyroid volume in the 1st quartile (Q1) vs. 4th quartile (Q4) for the study population) were performed with the Mann–Whitney U test or Student t test respectively, for non-normal and normal distribution of these data. Results with a  $p$  value of  $<0.05$  were considered to present statistical significance. The determination of the lower reference limit for the thyroid volume was done with the receiver operating characteristic (ROC) curve with the estimation of sensitivity, specificity and accuracy of the thyroid volume thresholds for the limit of TSH  $> 2.5 \mu\text{IU/mL}$ .

## 3. Results

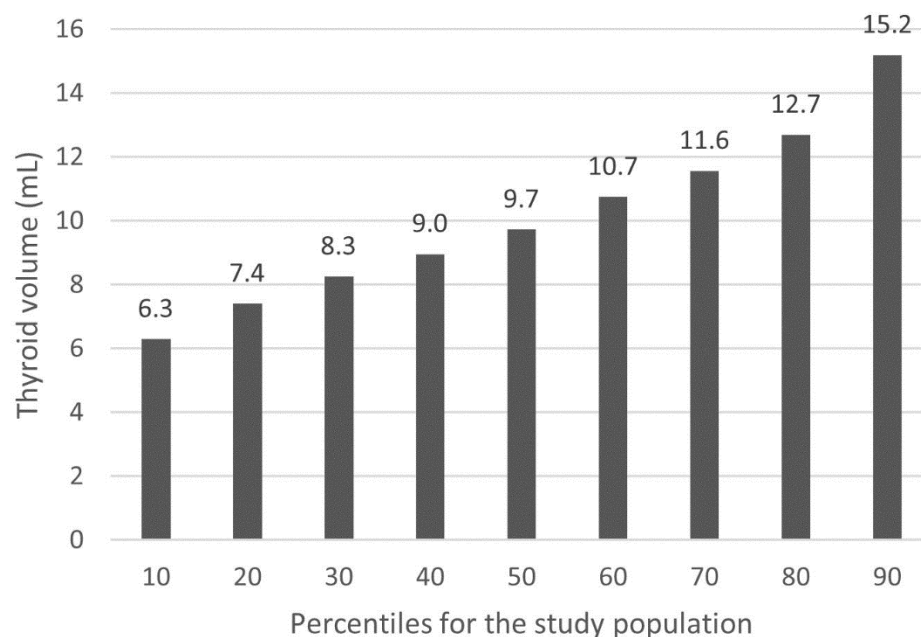
### 3.1. Relationship between the Thyroid Volume and the Thyroid Function

The quartiles of the thyroid volume for the study population were as follows: 1st quartile (Q1): 4.0–7.9 mL; 2nd quartile (Q2): 8.0–9.7 mL; 3rd quartile (Q3): 9.8–12.2 mL; 4th quartile (Q4): 12.3–20.4 mL. All the results of the calculations of percentiles for the thyroid volume in the study population are shown in Figure 1.

All correlations between the thyroid volume and the laboratory parameters of the thyroid function (TSH, fT4, ioduria, I/CR) are presented in Table 2.

The TSH level was the only factor that was significantly correlated with the thyroid volume and this correlation was negative ( $R = -0.28$ ;  $p = 0.0004$ ). In the multivariate linear regression, the correlation of thyroid volume with TSH was independent of the BMI in the population studied. In addition, in the comparison of the thyroid function parameters between the participants, with the thyroid volume in Q1 ( $<7.9$  mL) vs. Q4 ( $>12.2$  mL), the TSH level was the only factor that presented statistical significance ( $p = 0.0132$ ). In women with the thyroid volume in Q1, the median TSH level (minimum–maximum) was higher than in women with the thyroid volume in Q4: 2.09 (0.91–4.56)  $\mu\text{IU/mL}$  vs.

1.73 (0.72–4.33)  $\mu$ IU/mL. There was no relationship between the thyroid volume and fT4, ioduria and I/CR. All results are shown in Table 3.



**Figure 1.** Percentiles of the thyroid volume for the study population.

**Table 2.** Correlations between the thyroid volume and the thyroid function.

	R	p
TSH (0.27–4.2 $\mu$ IU/mL)	−0.28	<b>0.0004</b>
fT4 (12–22 pmol/L)	0.03	0.6971
ioduria 100–200 ( $\mu$ g/L)	−0.07	0.4196
I/CR	−0.08	0.3314

fT4—free thyroxine; I/CR—ioduria per g creatinine; TSH—thyrotropin. Correlations were performed with Spearman’s rank correlation coefficient for non-parametric data or with Pearson correlation coefficient for parametric data. Results were claimed statistically significant with *p* value < 0.05 (bolded).

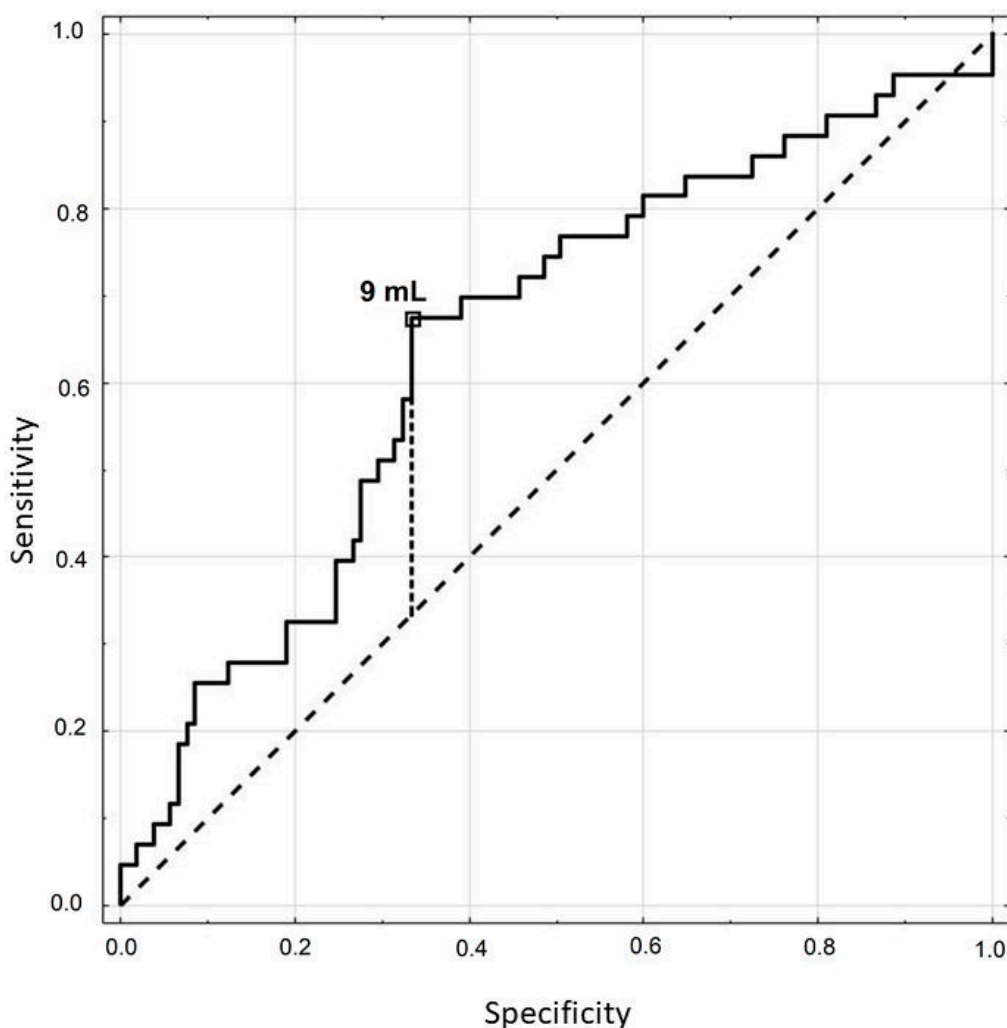
**Table 3.** Comparison of the thyroid function parameters in patients with the thyroid volume in the 1st quartile (<7.9 mL) versus the 4th quartile (>12.2 mL).

	Thyroid Volume in Q1 [Median (min–max)]	Thyroid Volume in Q4 [[Median (min–max)]	P
TSH (0.27–4.2 $\mu$ IU/mL)	2.09 (0.91–4.56)	1.73 (0.72–4.33)	<b>0.0132</b>
fT4 (12–22 pmol/L)	15.7 (11.4–19.6)	16.2 (11.1–20.7)	0.3859
ioduria 100–200 ( $\mu$ g/L)	109 (30–304)	91 (13–257)	0.6297
I/CR	74 (29–389)	66 (17–163)	0.4679

fT4—free thyroxine; I/CR—ioduria per g creatinine; min—minimum; max—maximum; Q1—the first quartile of the thyroid volume for the entire group (<7.9 mL); Q4—the fourth quartile of the thyroid volume for the entire group (>12.2 mL); TSH—thyrotropin. Comparisons were performed with Mann–Whitney U test for non-parametric data or with a Student t test for parametric data. Results were claimed statistically significant with a *p* value < 0.05 (bolded).

### 3.2. Determination of the Lower Limit of the Thyroid Volume for TSH > 2.5 $\mu$ IU/mL

The optimal lower limit for the thyroid volume for TSH above 2.5  $\mu$ IU/mL was determined to be 9 mL (Figure 2). This thyroid volume predicted the level of TSH with the sensitivity of 67%, specificity of 67% and accuracy of 67%. The area under the curve (AUC) was 0.646 (*p* = 0.0037).



**Figure 2.** ROC curve for the thyroid volume in estimating if thyrotropin (TSH) is above 2.5  $\mu\text{IU/mL}$ .

#### 4. Discussion

There are a variety of studies describing different factors that may affect the volume and function of the thyroid gland. Beyond genetic [19] and environmental factors, such as smoking [10,20], alcohol consumption [20], endocrine disruptors (polychlorinated biphenyls [21], bisphenol A [22]) or cell phone radiation [12]; age and anthropometric parameters are also mentioned [8–10,23,24]. It seems that many of these factors interact with each other in a complex way [25]. The most common reason of hypothyroidism is chronic lymphocytic thyroiditis (Hashimoto disease). However, hypothyroidism may also be diagnosed in people without AITD. In some of these patients “small thyroid gland” could be observed. We focused on young women, as subclinical and overt hypothyroidism are especially harmful for women of reproductive age, due to the risk of adverse pregnancy outcomes [1–3]. According to the guidelines of the American Thyroid Association and European Thyroid Association, the upper reference limit for TSH in early pregnancy was defined as 2.5 mU/L [4,5]. Young women with TSH > 2.5 mU/L suffer more often from infertility or adverse events in pregnancy [1–3]. It is still a matter of doubt, which level of TSH should be the cut-off point in pregnancy, and when levothyroxine substitution should be advised. There are also discrepancies in recommendations for screening for thyroid dysfunction before and during pregnancy from universal screening of TSH, to identify individuals at “high risk” for thyroid illness [4–6]. In our opinion, “small thyroid gland” not associated with AITD, is one of the reasons of hypothyroidism.

The first purpose of this study was to analyze the relationship between the thyroid volume and the thyroid function. The second aim was to establish the lower limit for the thyroid volume (“small thyroid gland”), below which, the TSH level is high enough to consider levothyroxine therapy according to the guidelines for pregnant women, or women planning pregnancy. To our knowledge there were no similar studies.

We proved that the thyroid volume was negatively correlated with TSH. In the comparison between participants with the thyroid volume in the 1st quartile vs. the 4th quartile for the study population, the TSH level presented statistical significance. There is little data in the literature on the relationship between TSH and the thyroid volume [10,19,20,26–28]. In accordance with our study, the negative correlation between the thyroid size and TSH in women was reported by Barrere et al. [10] in a large study on 2987 French adults, aged 35–60 years. The group of females aged between 35 and 39 consisted of 226 persons and is similar to our study. However, the authors did not test the presence TPOAb and/or TGAb as was done in the present study. Similarly, Hansen et al. [19] and Gomez et al. [20] reported the slight but significant negative correlation between the thyroid size and TSH. However, the study design of Hansen et al. [19] was different from our study as it considered self-reported healthy twins. In the study of Gomez et al. [20] included a smaller group of women ( $n = 134$ ) whose age ranged from 15 to 70 years, with the median of 40 years. On the contrary, Berghout [26] and Feldt-Rasmusen et al. [27] did not observe any relationship between TSH and the thyroid volume in females. However, both studies were conducted in smaller groups of female participants and were carried out in the 1980s, when ultrasonography had a higher risk of error because of the lower accuracy of the ultrasound equipment.

Trimboli et al. [7] in the retrospective study of 434 adult patients, proved that thyroid volume of subjects with normal laboratory results was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than thyroid volume of patients with elevated TSH. That is in agreement with our findings. It is worth emphasizing that our study excluded women with positive results of TPOAb and/or TGAb, and hypoechoic/inhomogenous thyroid glands in ultrasound; which made the group very homogenous.

In this study, no relationship between the thyroid volume and  $ft_4$ , ioduria and I/CR were observed. In the literature there is conflicting information concerning the relationships between the thyroid volume and thyroxin [10,19,26,27] or ioduria and I/CR [10,26].

The question is, if it is worth considering the thyroid volume evaluation in women of reproductive age as an additional screening tool? In our opinion “small thyroid gland” is a relatively frequent problem in women without AITD, and the ultrasonography of the thyroid before pregnancy, seems to be rational during target case finding procedure. Considering that the thyroid volume is negatively correlated with TSH, and even subclinical hypothyroidism may affect fertility and pregnancy outcomes; finding the lower safe limit for the thyroid volume in reproductive women seems to be crucial. The 9 mL cut-off point of the thyroid volume was the predictive factor for TSH level  $> 2.5 \mu\text{IU/mL}$  in our study. The prevalence of women with a TSH level above  $2.5 \mu\text{IU/mL}$  and  $4.2 \mu\text{IU/mL}$  (the upper range of TSH) was 29% and 4%, respectively. It means that levothyroxine therapy should be considered in one third of the women from our study in the case of pregnancy.

The limitations of the present study include the relatively small study group. On the other hand, the advantage of the study is a quite homogenous study population, as it consisted of women with no concomitant diseases, at similar age, and living in a similar habitat. Furthermore, the statistical analyses consisted of correlations together with the comparison between two independent groups (women with thyroid volume in the 1st quartile versus in the 4th quartile), making the results more reliable. Further studies with a larger group of women, and with follow-up, would be helpful in a better assessment of the correct meaning of “small thyroid gland”.

## 5. Conclusions

In conclusion, apart from TSH evaluation, ultrasonography seems to be useful in the screening for hypothyroidism in women of reproductive age during target case finding procedure. It is worth considering the use of the term “small thyroid gland” for hypoplastic thyroids if the TSH level is higher than the upper reference limit for pregnancy.

**Author Contributions:** Conceptualization, J.M.-B. and P.M.; data curation, J.M.-B.; formal analysis, J.M.-B.; investigation, J.M.-B.; methodology, J.M.-B.; supervision, P.M.; writing—original draft, J.M.-B.; writing—review and editing, J.M.-B. and P.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Commission on Bioethics, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland (protocol number KB/104/2015).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** All datasets used in statistical analyses in this study are available at the request of the reader.

**Acknowledgments:** The authors would like to thank Agnieszka Kondracka and Zbigniew Bartoszewicz for their contributions in performing all the laboratory measurements. We also appreciate the involvement of Małgorzata Zawierucha in collecting serum and urine samples.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Jansen, T.A.; Korevaar, T.I.M.; Mulder, T.A.; White, T.; Muetzel, R.L.; Peeters, R.P.; Tiemeier, H. Maternal thyroid function during pregnancy and child brain morphology: A time window-specific analysis of a prospective cohort. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **2019**. [\[CrossRef\]](#)
2. Ajmani, S.N.; Aggarwal, D.; Bhatia, P.; Sharma, M.; Sarabhai, V.; Paul, M. Prevalence of overt and subclinical thyroid dysfunction among pregnant women and its effect on maternal and fetal outcome. *J. Obstet. Gynaecol. India* **2014**, *64*, 105–110. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Negro, R.; Schwartz, A.; Gismondi, R.; Tinelli, A.; Mangieri, T.; Stagnaro-Green, A. Increased pregnancy loss rate in thyroid antibody negative women with TSH levels between 2.5 and 5.0 in the first trimester of pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2010**, *95*, E44–E48. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Lazarus, J.; Brown, R.S.; Daumerie, C.; Hubalewska-Dydejczyk, A.; Negro, R.; Vaidya, B. 2014 European thyroid association guidelines for the management of subclinical hypothyroidism in pregnancy and in children. *Eur. Thyroid. J.* **2014**, *3*, 76–94. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Stagnaro-Green, A.; Abalovich, M.; Alexander, E.; Azizi, F.; Mestman, J.; Negro, R.; Nixon, A.; Pearce, E.N.; Soldin, O.P.; Sullivan, S.; et al. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid* **2011**, *21*, 1081–1125. [\[CrossRef\]](#)
6. De Groot, L.; Abalovich, M.; Alexander, E.K.; Amino, N.; Barbour, L.; Cobin, R.H.; Eastman, C.J.; Lazarus, J.H.; Luton, D.; Mandel, S.J.; et al. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: An Endocrine Society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2012**, *97*, 2543–2565. [\[CrossRef\]](#)
7. Trimboli, P.; Rossi, F.; Thorel, F.; Condorelli, E.; Laurenti, O.; Ventura, C.; Nigri, G.; Romanelli, F.; Guarino, M.; Valabrega, S. One in five subjects with normal thyroid ultrasonography has altered thyroid tests. *Endocr. J.* **2012**, *59*, 137–143. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Suzuki, S.; Midorikawa, S.; Fukushima, T.; Shimura, H.; Ohira, T.; Ohtsuru, A.; Abe, M.; Shibata, Y.; Yamashita, S.; Suzuki, S.; et al. Systematic determination of thyroid volume by ultrasound examination from infancy to adolescence in Japan: The Fukushima Health Management Survey. *Endocr. J.* **2015**, *62*, 261–268. [\[CrossRef\]](#)
9. Şahin, E.; Elboğa, U.; Kalender, E. Regional reference values of thyroid gland volume in Turkish Adults. *Srp. Arh. Celok. Lek.* **2015**, *143*, 141–145. [\[CrossRef\]](#)
10. Barrère, X.; Valeix, P.; Preziosi, P.; Bensimon, M.; Pelletier, B.; Galan, P.; Hercberg, S. Determinants of thyroid volume in healthy French adults participating in the SU.VI.MAX cohort. *Clin. Endocrinol.* **2000**, *52*, 273–278. [\[CrossRef\]](#)
11. Tarnoki, A.D.; Tarnoki, D.L.; Speer, G.; Littvay, L.; Bata, P.; Garami, Z.; Berczi, V.; Karlinger, K. Genetic and environmental influence on thyroid gland volume and thickness of thyroid isthmus: A twin study. *Arch. Endocrinol. Metab.* **2015**. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Asl, J.F.; Larijani, B.; Zakerkish, M.; Rahim, F.; Shirbandi, K.; Akbari, R. The possible global hazard of cell phone radiation on thyroid cells and hormones: A systematic review of evidences. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2019**, *26*, 18017–18031. [\[CrossRef\]](#)

13. Anil, C.; Kut, A.; Atesagaoglu, B.; Nar, A.; Bascil Tutuncu, N.; Gursoy, A. Metformin Decreases Thyroid Volume and Nodule Size in Subjects with Insulin Resistance: A Preliminary Study. *Med. Princ. Pract.* **2016**, *25*, 233–236. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Yousef, M.; Sulieman, A.; Ahmed, B.; Abdella, A.; Eltom, K. Local reference ranges of thyroid volume in sudanese normal subjects using ultrasound. *J. Thyroid. Res.* **2011**, *2011*, 935141. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Aumont, G.; Tressol, J.C. Rapid method for the direct determination of inorganic iodine in plasma using ion-exchange chromatography and the Sandell and Kolthoff reaction. *Analyst* **1987**, *112*, 875–878. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Delanghe, J.R.; Speckaert, M.M. Creatinine determination according to Jaffe—what does it stand for? *NDT Plus* **2011**, *4*, 83–86. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Trzebińska, A.; Dobruch-Sobczak, K.; Jakubowski, W.; Jędrzejowski, M. Standards of the Polish Ultrasound Society—Update. Ultrasound examination of thyroid gland and ultrasound-guided thyroid biopsy. *J. Ultrason* **2014**, *14*, 49–60. [[CrossRef](#)]
18. Grant, E.G.; Tessler, F.N.; Hoang, J.K.; Langer, J.E.; Beland, M.D.; Berland, L.L.; Cronan, J.J.; Desser, T.S.; Frates, M.C.; Hamper, U.M.; et al. Thyroid Ultrasound Reporting Lexicon: White Paper of the ACR Thyroid Imaging, Reporting and Data System (TIRADS) Committee. *J. Am. Coll. Radiol.* **2015**, *12*, 1272–1279. [[CrossRef](#)]
19. Hansen, P.S.; Brix, T.H.; Bennedbaek, F.N.; Bonnema, S.J.; Kyvik, K.O.; Hegedüs, L. Genetic and environmental causes of individual differences in thyroid size: A study of healthy Danish twins. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2004**, *89*, 2071–2077. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Gómez, J.M.; Maravall, F.J.; Gómez, N.; Gumà, A.; Soler, J. Determinants of thyroid volume as measured by ultrasonography in healthy adults randomly selected. *Clin. Endocrinol.* **2000**, *53*, 629–634. [[CrossRef](#)]
21. Langer, P.; Tajtáková, M.; Kocan, A.; Petrik, J.; Koska, J.; Ksinantová, L.; Rádiková, Z.; Ukropec, J.; Imrich, R.; Hucková, M.; et al. Thyroid ultrasound volume, structure and function after long-term high exposure of large population to polychlorinated biphenyls, pesticides and dioxin. *Chemosphere* **2007**, *69*, 118–127. [[CrossRef](#)]
22. Wang, N.; Zhou, Y.; Fu, C.; Wang, H.; Huang, P.; Wang, B.; Su, M.; Jiang, F.; Fang, H.; Zhao, Q.; et al. Influence of Bisphenol A on Thyroid Volume and Structure Independent of Iodine in School Children. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0141248. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Wesche, M.F.; Wiersinga, W.M.; Smits, N.J. Lean body mass as a determinant of thyroid size. *Clin. Endocrinol.* **1998**, *48*, 701–706. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Boas, M.; Hegedüs, L.; Feldt-Rasmussen, U.; Skakkebaek, N.E.; Hilsted, L.; Main, K.M. Association of thyroid gland volume, serum insulin-like growth factor-I, and anthropometric variables in euthyroid prepubertal children. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2009**, *94*, 4031–4035. [[CrossRef](#)]
25. Hegedüs, L. Thyroid size determined by ultrasound. Influence of physiological factors and non-thyroidal disease. *Dan. Med. Bull.* **1990**, *37*, 249–263. [[PubMed](#)]
26. Berghout, A.; Wiersinga, W.M.; Smits, N.J.; Touber, J.L. Determinants of thyroid volume as measured by ultrasonography in healthy adults in a non-iodine deficient area. *Clin. Endocrinol.* **1987**, *26*, 273–280. [[CrossRef](#)]
27. Feldt-Rasmussen, U.; Hegedüs, L.; Perrild, H.; Rasmussen, N.; Hansen, J.M. Relationship between serum thyroglobulin, thyroid volume and serum TSH in healthy non-goitrous subjects and the relationship to seasonal variations in iodine intake. *Thyroidology* **1989**, *1*, 115–118.
28. Gómez, J.M.; Maravall, F.J.; Gómez, N.; Gumà, A.; Casamitjana, R.; Soler, J. Pituitary-thyroid axis, thyroid volume and leptin in healthy adults. *Horm. Metab. Res.* **2002**, *34*, 67–71. [[CrossRef](#)]

**6.2. Exposure to bisphenol A analogs and the thyroid function and volume in women of reproductive age-cross-sectional study**





# Exposure to Bisphenol A Analogs and the Thyroid Function and Volume in Women of Reproductive Age—Cross-Sectional Study

Justyna Milczarek-Banach<sup>1</sup>, Dominik Rachoń<sup>2</sup>, Tomasz Bednarczuk<sup>1</sup>, Katarzyna Myśliwiec-Czajka<sup>1</sup>, Andrzej Wasik<sup>3</sup> and Piotr Miśkiewicz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Internal Medicine and Endocrinology, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland, <sup>2</sup> Department of Clinical and Experimental Endocrinology, Medical University of Gdańsk, Gdańsk, Poland, <sup>3</sup> Department of Analytical Chemistry, Chemical Faculty, Gdańsk University of Technology, Gdańsk, Poland

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Leonidas H. Duntas,  
National University of Athens, Greece

### Reviewed by:

Joanne F. Rovet,  
Hospital for Sick Children, Canada  
Samantha J. Richardson,  
RMIT University, Australia

### \*Correspondence:

Piotr Miśkiewicz  
piotr.miskiewicz@wum.edu.pl

### Specialty section:

This article was submitted to  
Thyroid Endocrinology,  
a section of the journal  
Frontiers in Endocrinology

Received: 25 July 2020

Accepted: 01 December 2020

Published: 19 January 2021

### Citation:

Milczarek-Banach J, Rachoń D, Bednarczuk T, Myśliwiec-Czajka K, Wasik A and Miśkiewicz P (2021) Exposure to Bisphenol A Analogs and the Thyroid Function and Volume in Women of Reproductive Age—Cross-Sectional Study. *Front. Endocrinol.* 11:587252. doi: 10.3389/fendo.2020.587252

Bisphenols (BPs) are commonly known plastifiers that are widely used in industry. The knowledge about the impact of BPs on thyroid function is scarce. Proper thyroid functioning is especially important for women of reproductive age, as hypothyroidism affects fertility, pregnancy outcomes and the offspring. There are no studies analyzing the influence of BPs on thyroid function and volume in non-pregnant young women. The aim of this cross-sectional study was to evaluate the relationship between bisphenol A and its 10 analogs (BPS, BPC, BPE, BPF, BPG, BPM, BPP, BPZ, BPFL, and BPBP) on thyroid function and volume in women of reproductive age. Inclusion criteria were: female sex, age 18–40 years. Exclusion criteria were history of any thyroid disease, pharmacotherapy influencing thyroid function, pregnancy or puerperium, and diagnosis of autoimmune thyroid disease during this study. Venous blood was drawn for measurement of thyrotropin (TSH), free thyroxine, thyroid peroxidase antibodies, thyroglobulin antibodies, BPs. Urine samples were analyzed for: ioduria and BPs. Ultrasound examination of thyroid gland was performed. One hundred eighty participants were included into the study. A negative correlation was found between urine BPC and the thyroid volume ( $R = -0.258$ ;  $p = 0.0005$ ). Patients with detected urine BPC presented smaller thyroid glands than those with not-detected urine BPC ( $p = 0.0008$ ). A positive correlation was found between TSH and urine BPC ( $R = 0.228$ ;  $p = 0.002$ ). Patients with detected urine BPC presented higher concentrations of TSH versus those with not-detected urine BPC ( $p = 0.003$ ). There were no relationships between any of serum BPs as well as the other urine BPs and thyroid function and its volume. The only BP that demonstrated the relationship between thyroid function and its volume was BPC, probably because of its chemical structure that most resembles thyroxine. Exposure to this BP may result in the development of hypothyroidism that could have a negative impact on pregnancy and the offspring.

**Keywords:** endocrine disruptors, chemicals, bisphenol, hypothyroidism, thyroid function, thyroid volume, pregnancy, reproduction

## INTRODUCTION

Bisphenol A (BPA; 4,4'-isopropylidenediphenol) was first developed in 1891 as a synthetic estrogen and in the 1930s has been shown to stimulate the female reproductive system in rats. Because of the ability to interfere with the action of hormones, BPA belongs to the class of endocrine disrupting chemicals (EDC) (1–3). Presently, estrogenic properties of BPA have been forgotten and this chemical is commonly used in the production of polycarbonate plastics, including clear plastic bottles, plastic toys, baby pacifiers, teething rings as well as epoxy resins, inner linings of food and beverage containers, dental sealants and thermal receipt paper (4–9). Because of research findings that suggest adverse effects on human health after exposure to BPA, international governments have denied the usage of this chemical in products dedicated for food storage and for children, especially for newborns. For this reason, numerous structural analogs of BPA have been used in growing quantities in the plastic industry and have been thought to be potentially safe alternatives of BPA. However, the knowledge of their biological and environmental impact is still limited. This is especially worrisome given multiple routes of human exposure, namely oral, transdermal, and inhalatory (10).

The most studied bisphenol, BPA, shows numerous adverse development effects including estrogen dependent neoplasms (11–13); metabolic disorders, such as obesity, diabetes, insulin resistance (14); polycystic ovary syndrome (15); and neurobehavioral disorders (16). There are also several studies that documented the harmful effects of BPA on the thyroid function (17–19).

Proper thyroid functioning is crucial for the maintenance of homeostasis in human organisms. For women of reproductive age, attaining euthyroidism is critically important since hypothyroidism affects fertility, pregnancy outcomes, and the health of the offspring. Pregnant women with overt or subclinical hypothyroidism have a higher risk of preeclampsia, premature delivery, premature abruption of placenta and miscarriage (20–22). Maternal hypothyroidism can also lead to the retardation of neural development of the fetus, low birth weight and intrauterine growth retardation of the offspring (20–22). According to American Thyroid Association guidelines from 2011 and European Thyroid Association guidelines from 2014 the upper reference limit for thyrotropin (TSH) in pregnancy was defined as <2.5 mU/L in the first trimester and <3.0–3.5 mU/L in the second and third trimesters (23, 24).

Most studies evaluating the effects of different bisphenols (BPs) on thyroid function were performed *in vitro* (19, 25, 26) or on animal models (mainly on rodents and zebrafish) (18, 27–29), while human studies have examined pregnant women and

children (17, 30–32). Moreover, data on the impact of BPA analogs on the human thyroid function is limited. Several studies indicate that BPs may act as agonists of the thyroid hormone receptors (TR) (19), while others indicate that BPA also acts as an antagonist (18, 27). However, no studies have analyzed the influence of BPA and its analogs on the thyroid function and volume in non-pregnant women of reproductive age.

Therefore, the aim of this cross-sectional study was to evaluate the potential relationship between BPA and its 10 analogs on the thyroid function and volume in women of reproductive age living in Warsaw, Poland. These 10 analogs include bisphenol S (BPS), bisphenol C (BPC), bisphenol E (BPE), bisphenol F (BPF), bisphenol G (BPG), bisphenol M (BPM), bisphenol P (BPP), bisphenol Z (BPZ), bisphenol FL (BPFL), and bisphenol BP (BPPB).

## MATERIALS AND METHODS

### Patients

This cross-sectional, clinical study was conducted in the Department of Internal Medicine and Endocrinology, Medical University of Warsaw in the period between October 2017 and May 2019. The study protocol conforms to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki as reflected in *a priori* approval by the institution's human research committee. The study was approved by the Committee on Bioethics at the Medical University of Warsaw (nr KB/104/2015). Written informed consent was obtained from all participants.

Inclusion criteria were female sex and age between 18 and 40 years. Exclusion criteria were as follows: (i) a documented history of no thyroid disease before the study (hypothyroidism, hyperthyroidism, thyroid nodules, and autoimmune thyroid disease); (ii) pharmacotherapy influencing the thyroid function (especially iodine, antithyroid drugs, levothyroxine, and selenium); (iii) pregnancy or puerperium; and (iv) diagnosis of autoimmune thyroid disease during this study. Finally, 180 women were eligible for the study. All were students of Medical University of Warsaw. All of them were research volunteers. Detailed characteristics of the studied subjects are contained in **Table 1**. Flowchart diagram for the recruitment for the study is presented in **Figure 1**.

### Thyroid Ultrasound Examination

Ultrasonography of the thyroid gland was performed by physician with a 5-year experience (JMB). All the ultrasound scans were performed using the Hitachi Avius Medical ultrasound technique system equipped with the 7.5–12 MHz high frequency linear array transducer. Thyroid ultrasound procedures were done on the basis of the Ultrasound Examination Standards of the Polish Ultrasound Society and American College of Radiology Guidelines (33, 34). The neck was scanned in sagittal, transverse and oblique sections to optimally visualize both lobes of the thyroid gland and the isthmus. All images were examined on real-time two-dimensional B-mode grayscale and Doppler imaging.

**Abbreviations:** BPs, bisphenols; BPA, bisphenol A; BPPB, bisphenol BP; BPC, bisphenol C; BPE, bisphenol E; BPF, bisphenol F; BPFL, bisphenol FL; BPG, bisphenol G; BPM, bisphenol M; BPP, bisphenol P; BPS, bisphenol S; BPZ, bisphenol Z; DR%, detection rate; EDC, endocrine disrupting chemicals; FRTL-5, a type of thyroid follicular cell line; FT<sub>4</sub>, free thyroxine; GH<sub>3</sub>, a type of rat pituitary cell line; LOD, limit of detection; LOQ, limit of quantification; SD, standard deviation; T<sub>3</sub>, triiodothyronine; TBBPA, tetrabromobisphenol A; TCBPA, tetrachlorobisphenol A; TMBPA, tetramethylbisphenol A; TR, thyroid hormone receptors; TSH, thyrotropin.

**TABLE 1** | Basal characteristics of the study population (n = 180).

Characteristics	mean ± SD or n (%)
Age (years)	24 ± 3
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21.2 ± 3.0
Thyroid volume (ml)	10.2 ± 3.2
Laboratory measurements	
TSH (uIU/ml) (N: 0.27–4.2)	2.1 ± 0.9
fT4 (pmol/l) (N: 12–22)	16.3 ± 2.2
ioduria (ug/l) (N: 100–300)	122.0 ± 103.9
ioduria/g creatinine	85.5 ± 103.3
Presence of thyroid lesions in US	58 (32)
Smoking	
current	20 (11)
former	27 (15)
never	133 (74)
Pregnancy in the past	9 (5)

BMI, body mass index; fT4, free thyroxine; SD, standard deviation; TSH, thyrotropin; US, ultrasonography.

## Laboratory Measurements

All procedures were performed with precautions intended to minimize the risk of sample contamination with BPs. Venous blood was drawn from all study participants, in the morning, after an overnight fasting (>8 h) into 7-ml glass tubes. After 30 min of incubation in the room temperature the blood samples

were centrifuged for 15 min (g-force 1,000xg). Next, serum samples were collected into 1.5-ml glass vials with polytetrafluoroethylene caps using disposable transfer (Pasteur) pipette made of low-density polyethylene. Serum samples were frozen and stored vertically at –70°C for further analyses. Additionally, each study participant was asked to bring 100 ml of midstream morning urine sample for the evaluation of urinary iodine, creatinine and BPs. Urine samples were also collected into glass jars, then frozen and stored vertically at –70°C for further analyses.

TSH, free thyroxine (fT4), thyroid peroxidase antibodies and thyroglobulin antibodies were measured in serum samples using an electrochemiluminescence immunoassay (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) on Cobas e411 Analyzer (Hitachi, Tokyo, Japan) in the Scientific Laboratory at the Department of Internal Medicine and Endocrinology, Medical University of Warsaw. Serum thyroid peroxidase antibodies and thyroglobulin antibodies above >34 and >115 IU/ml, respectively, were considered as “positive”.

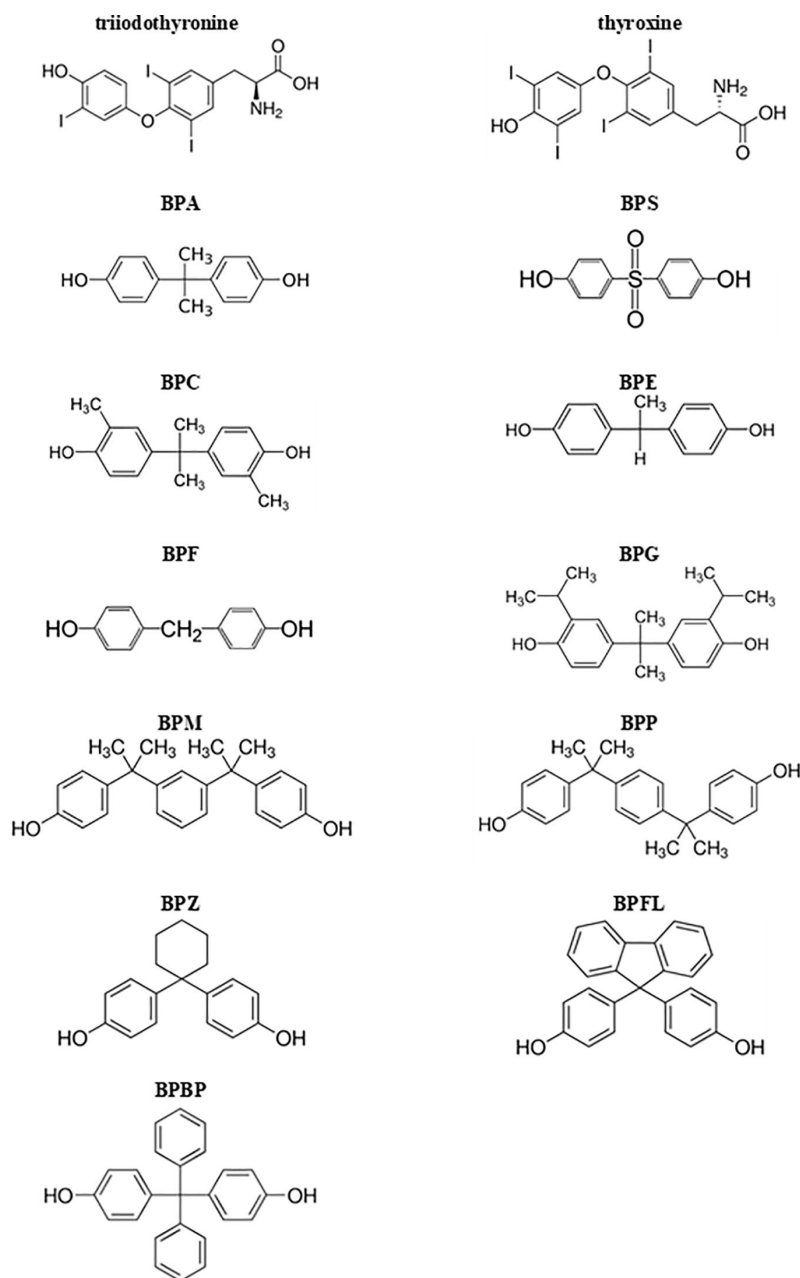
Urine iodine concentrations were measured by the catalytic arsenium-cerium method based on Sandell-Kolthoff reaction (35). Urinary creatinine was assessed by colorimetric Jaffe method (36).

Serum and urine concentrations of BPA and its 10 analogs (BPS, BPC, BPE, BPF, BPG, BPM, BPP, BPZ, BPFL, and BPBP) were measured using high performance liquid chromatography method with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) on the Shimadzu



triple quadrupole LC-MS/MS system (LCMS-8060; Shimadzu, Japan) equipped with an electrospray ionization source working in the negative multiple reaction mode, in the Department of Analytical Chemistry, Chemical Faculty, Gdańsk University of Technology. Detailed description of the whole method has been already published elsewhere (37). The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) for BPA and its 10 analogs are presented in **Table S1**. The term “detected” means that the

concentration of the measured BP was above the LOD presented in **Table S1**. The term, “not-detected” means that the concentration of the measured BP was below the LOD presented in **Table S1**. BPs concentration values between the LOD and LOQ were extrapolated from the calibration curve. The term “detection rate (DR%)” means the percentage of women with the measurable BPs concentration above the LOD. Chemical structures of BPs tested in our study are shown in **Figure 2**.



**FIGURE 2** | Chemical structures of bisphenols examined in this study and of thyroid hormones (triiodothyronine and thyroxine). BPA, bisphenol A; BPS, bisphenol S; BPC, bisphenol C; BPE, bisphenol E; BPF, bisphenol F; BPG, bisphenol G; BPM, bisphenol M; BPP, bisphenol P; BPZ, bisphenol Z; BPFL, bisphenol FL; BPBP, bisphenol BP.

## Statistical Approach and Analyses

All statistical analyses were performed with the usage of the computer program STATISTICA ver.13.0 for Windows. Distributions of the variables were evaluated with the Shapiro-Wilk test. Continuous variables are presented as arithmetic mean  $\pm$  standard deviation (SD). Categorical data are presented as numbers and percentage values (%).

The analysis of the results consisted of the following steps: First, correlations were performed between concentrations of selected BPs and thyroid volume, TSH and fT4 using the Spearman correlation test. Second, comparisons of thyroid volume, TSH and fT4 were performed in two independent groups of participants (with detected versus not-detected concentrations of studied BPs) using the Mann-Whitney U test.

Because of the multiple comparisons, the Bonferroni correction was used and all results with  $p$  value  $< 0.0033$  were considered statistically significant.

## Data Sets Availability

Database analyzed in this study is available for interested researchers in **Table S2**.

## RESULTS

DR as well as mean serum and urine concentrations for each of the studied BP are presented in **Table S1**.

### Relationship Between Thyroid Volume and BPs Concentrations (Respectively in Serum and Urine)

All correlations between thyroid volume and concentrations of BPs, respectively in serum and urine, are given in **Table 2**. There were no statistically significant correlations between thyroid volume and serum BPs. There was a significant negative correlation between thyroid volume and urine concentration of BPC ( $R = -0.258$ ;  $p = 0.0005$ ). There were no correlations between thyroid volume and urine concentration of the other BPs.

All results from the comparison of thyroid volume according to the detection of the analyzed BPs (respectively in serum and urine) are presented in **Table 3**. No significant differences were found in thyroid volume between women with detected versus women with not-detected BPs in serum. Patients with detected BPC in urine presented significantly smaller thyroids than those with not-detected BPC in urine ( $p = 0.0008$ ) (**Figure 3**). There were no significant differences in thyroid volumes of participants with detected versus women with not-detected BPs in urine.

### Relationship Between Thyroid Function and BPs Concentrations (Respectively in Serum and Urine)

All correlations between TSH and fT4 with BPs concentrations in serum and urine are presented in **Table 4**. There were no significant correlations between TSH as well as fT4 and serum concentration of BPs. There was a significant positive correlation

**TABLE 2** | Correlations between concentrations of selected bisphenols in serum and urine and thyroid volume.

	R	p
Serum		
BPA	-0.009	0.902
BPS	-0.027	0.729
BPC	0.049	0.519
BPE	-0.059	0.438
BPF	0.038	0.623
BPG	-0.161	0.034
BPM	-0.088	0.246
BPP	0.089	0.250
BPZ	-0.049	0.521
BPFL	0.013	0.863
BPBP	-0.176	0.020
Urine		
BPA	-0.069	0.365
BPS	-0.069	0.360
BPC	-0.258	0.0005*
BPE	0.005	0.945
BPF	-0.005	0.943
BPG	-0.040	0.598
BPM	-0.068	0.368
BPP	-0.037	0.624
BPZ	0.029	0.698
BPFL	-0.072	0.344
BPBP	-0.009	0.905

BPA, bisphenol A; BPS, bisphenol S; BPC, bisphenol C; BPE, bisphenol E; BPF, bisphenol F; BPG, bisphenol G; BPM, bisphenol M; BPP, bisphenol P; BPZ, bisphenol Z; BPFL, bisphenol FL; BPBP, bisphenol BP.

Results were calculated for 176 serum samples and for 177 urine samples.

Correlations were evaluated with Spearman correlation coefficient. After Bonferroni correction results were claimed statistically significant with  $p$  value  $< 0.0033$  (\*).

between TSH and urine BPC concentrations ( $R = 0.228$ ;  $p = 0.002$ ). No significant correlations were observed between TSH and fT4 with urine concentrations of the other BPs.

The results from the comparison of TSH and fT4 levels according to the detection of selected BPs in serum and urine are shown in **Table 5**. There were no statistically significant differences in TSH and fT4 levels between the groups of women with detected vs not-detected BPs in serum. Considering urine concentrations of BPs, only women with BPC detected in urine presented higher TSH levels versus those with not-detected urine BPC ( $p = 0.0033$ ) (**Figure 4**). The comparison of fT4 levels between women with detectable vs non-detectable BPs in urine did not reveal any significant differences.

## DISCUSSION

BPA analogs are widely used in many applications replacing BPA, but without proper understanding of their harmful potential. Human and wildlife observations point toward subtle, but significant effects of low-dose BPs exposure on the thyroid function. However, mechanistic and toxicological aspects as well as epidemiological design are necessary for the objective assessment of the impact of BPs on humans. Hence, this demands a great challenge for scientists who have to examine the possible toxicity of a selected molecule.

**TABLE 3** | Comparison of thyroid volume (ml) according to the detection of selected bisphenols in serum and urine.

	BP detected	BP not-detected	p
<b>Serum</b>			
BPA	10.1 ± 3.3	10.6 ± 3.0	0.291
BPS	10.1 ± 2.8	10.3 ± 3.7	0.969
BPC	10.5 ± 3.1	10.1 ± 3.2	0.465
BPE	10.1 ± 3.1	10.3 ± 3.3	0.644
BPF	10.1 ± 3.2	10.3 ± 3.2	0.778
BPG	9.6 ± 2.9	10.5 ± 3.3	0.097
BPM	10.0 ± 3.2	10.6 ± 3.1	0.135
BPP	10.3 ± 3.0	10.1 ± 3.6	0.558
BPZ	10.1 ± 3.3	10.4 ± 3.1	0.487
BPFL	10.1 ± 2.8	10.4 ± 3.8	0.963
BPBP	9.5 ± 3.0	10.7 ± 3.3	0.022
<b>Urine</b>			
BPA	10.2 ± 3.1	10.0 ± 3.3	0.680
BPS	9.9 ± 3.1	10.4 ± 3.2	0.200
BPC	8.0 ± 3.1	10.4 ± 3.1	0.0008*
BPE	10.1 ± 3.0	10.2 ± 3.2	0.981
BPF	10.2 ± 3.2	10.0 ± 3.0	0.876
BPG	10.0 ± 3.5	10.2 ± 3.1	0.480
BPM	10.0 ± 3.1	10.3 ± 3.2	0.503
BPP	10.2 ± 3.3	10.1 ± 3.0	0.855
BPZ	10.1 ± 3.3	10.1 ± 3.0	0.975
BPFL	9.8 ± 3.0	10.3 ± 3.3	0.314
BPBP	10.0 ± 3.2	10.2 ± 3.2	0.922

BP, bisphenol; BPA, bisphenol A; BPS, bisphenol S; BPC, bisphenol C; BPE, bisphenol E; BPF, bisphenol F; BPG, bisphenol G; BPM, bisphenol M; BPP, bisphenol P; BPZ, bisphenol Z; BPFL, bisphenol FL; BPBP, bisphenol BP.

The term "detected" means that the concentration of selected bisphenol was above the limit of detection (LOD) presented in **Table S1**, see **Supplemental Material**. The term "not-detected" means that the concentration of selected bisphenol was below the LOD. Results were calculated for 176 serum samples and for 177 urine samples.

Comparisons were performed with the Mann-Whitney U test. After Bonferroni correction results were claimed statistically significant with p value < 0.0033 (\*).

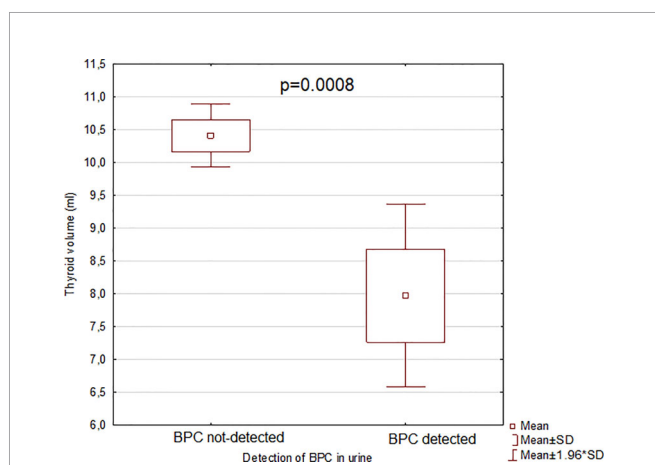
**TABLE 4** | Correlations of bisphenols (BPs) concentrations in serum and urine with thyrotropin (TSH) and free thyroxine (fT4).

	BPs vs. TSH		BPs vs. fT4	
	R	p	R	p
<b>Serum</b>				
BPA	0.044	0.562	-0.151	0.045
BPS	0.007	0.932	0.049	0.517
BPC	-0.088	0.245	-0.021	0.778
BPE	-0.005	0.953	0.014	0.853
BPF	0.055	0.468	-0.113	0.137
BPG	0.066	0.387	0.061	0.421
BPM	0.013	0.867	-0.002	0.978
BPP	-0.066	0.383	-0.033	0.667
BPZ	-0.081	0.287	-0.026	0.731
BPFL	0.012	0.872	0.044	0.559
BPBP	0.079	0.295	-0.006	0.933
<b>Urine</b>				
BPA	0.069	0.360	0.031	0.679
BPS	-0.210	0.005	-0.010	0.890
BPC	0.228	0.002*	-0.021	0.781
BPE	0.026	0.728	0.076	0.317
BPF	0.039	0.604	0.064	0.399
BPG	-0.012	0.869	0.147	0.050
BPM	0.085	0.262	0.016	0.832
BPP	-0.066	0.382	-0.095	0.206
BPZ	-0.069	0.359	0.046	0.541
BPFL	-0.056	0.458	0.066	0.383
BPBP	0.014	0.852	0.069	0.360

BPs, bisphenols; BPA, bisphenol A; BPS, bisphenol S; BPC, bisphenol C; BPE, bisphenol E; BPF, bisphenol F; BPG, bisphenol G; BPM, bisphenol M; BPP, bisphenol P; BPZ, bisphenol Z; BPFL, bisphenol FL; BPBP, bisphenol BP; fT4, free thyroxine; TSH, thyrotropin.

Results were calculated for 176 serum samples and for 177 urine samples.

Correlations were evaluated with Spearman correlation coefficient. After Bonferroni correction results were claimed statistically significant with p value < 0.0033 (\*).



**FIGURE 3** | Comparison of thyroid volume according to the detection of bisphenol C (BPC) in urine (n = 177). BPC, bisphenol C; SD, standard deviation. The term "detected" means that the concentration of bisphenol C was above the limit of detection (LOD) presented in **Table S1**, see **Supplemental Material**. The term "not-detected" means that the concentration of bisphenol C was below the LOD. The comparison was performed with the Mann-Whitney U test. After Bonferroni correction results were claimed statistically significant with p < 0.0033.

DR of BPA in studies was mainly at over 90% (30, 38, 39). In the present study, the DR of BPA in serum and urine samples was slightly lower, at about 80% of samples. Data on the DRs of BPA analogs in human studies are poor. Notably, there are no data on the DR of BPC in humans.

The difference in the level of DRs between studies is probably caused by living environment of the participants. Moreover, different methods of BPs detection were used (HPLC, HPLS-MS/MS, LC-MS, GC-MS). Also, the relatively high LOD for the method used could be another reason for lower DR of BPs in the current study. Furthermore, it is worth to emphasize the fact that in the studies there were examined conjugated, unconjugated or total BPs (mainly BPA). Also the stability of phenolic compounds differs according to the type of sample (blood, urine, tissues) and the method of samples storage (10).

Our findings examining the relationships between BPs and thyroid volume showed only urine concentration of BPC was correlated with thyroid volume. The correlation was negative, signifying those with higher BPC concentrations had smaller thyroid volumes. A possible reason for the difference between our results in urine and serum could be variations in the stability of phenolic compounds (BPs) in fluids (10). To our knowledge there are no studies on the relationship between BPC and thyroid volume, neither in human, nor in animals or *in vitro*. In the study on 718 children of school-age living in China, Wang et al. (30)

**TABLE 5** | Comparison of thyrotropin (TSH) level (mean ± SD; μIU/ml) and free thyroxine (fT4) level (mean ± SD; pmol/l) according to the detection of selected bisphenols in serum and urine.

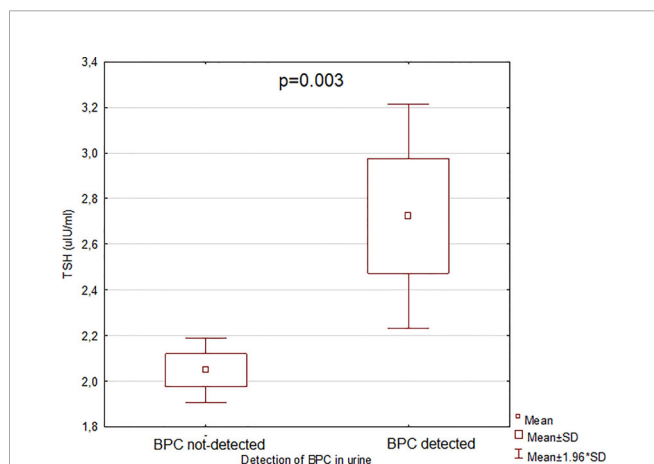
	TSH (mean ± SD; μIU/ml)			fT4 (mean ± SD; pmol/l)		
	BP detected	BP not-detected	p	BP detected	BP not-detected	p
<b>Serum</b>						
BPA	2.12 ± 0.96	2.00 ± 0.88	0.613	16.2 ± 2.1	16.6 ± 2.3	0.452
BPS	2.07 ± 0.89	2.10 ± 1.01	0.767	16.3 ± 2.1	16.2 ± 2.2	0.646
BPC	1.94 ± 0.78	2.15 ± 0.99	0.279	16.3 ± 2.6	16.3 ± 2.0	0.237
BPE	2.13 ± 1.04	2.08 ± 0.89	0.975	16.3 ± 2.3	16.2 ± 2.1	0.929
BPF	2.15 ± 0.99	2.04 ± 0.89	0.564	16.1 ± 2.1	16.5 ± 2.2	0.340
BPG	2.26 ± 1.10	2.04 ± 0.87	0.380	16.5 ± 2.3	16.2 ± 2.1	0.467
BPM	2.13 ± 1.00	2.04 ± 0.82	0.882	16.2 ± 2.1	16.5 ± 2.3	0.548
BPP	2.11 ± 1.01	2.09 ± 0.83	0.586	16.3 ± 2.1	16.2 ± 2.3	0.996
BPZ	2.13 ± 0.99	2.07 ± 0.90	0.962	16.2 ± 2.3	16.3 ± 2.0	0.852
BPFL	2.09 ± 0.94	2.12 ± 0.97	0.869	16.4 ± 2.1	16.1 ± 2.3	0.336
BPBP	2.18 ± 0.99	2.04 ± 0.91	0.446	16.3 ± 2.4	16.2 ± 2.0	0.866
<b>Urine</b>						
BPA	2.17 ± 0.97	1.92 ± 0.84	0.197	16.4 ± 2.1	15.6 ± 2.0	0.041
BPS	1.94 ± 0.89	2.29 ± 0.97	0.009	16.3 ± 2.0	16.2 ± 2.2	0.768
BPC	2.72 ± 1.09	2.05 ± 0.90	0.003*	16.1 ± 1.4	16.3 ± 2.2	0.839
BPE	2.14 ± 0.95	2.11 ± 0.95	0.713	16.5 ± 2.1	16.1 ± 2.1	0.356
BPF	2.11 ± 0.99	2.17 ± 0.82	0.435	16.3 ± 2.1	16.2 ± 2.2	0.721
BPG	2.02 ± 0.75	2.14 ± 0.98	0.902	17.0 ± 2.0	16.1 ± 2.1	0.042
BPM	2.19 ± 1.00	2.02 ± 0.86	0.442	16.2 ± 2.1	16.3 ± 2.2	0.927
BPP	2.03 ± 0.88	2.24 ± 1.02	0.188	16.2 ± 2.2	16.4 ± 2.1	0.479
BPZ	2.05 ± 1.01	2.19 ± 0.88	0.138	16.3 ± 2.1	16.2 ± 2.1	0.630
BPFL	2.08 ± 0.92	2.15 ± 0.96	0.750	16.4 ± 2.1	16.1 ± 2.1	0.167
BPBP	2.23 ± 1.11	2.07 ± 0.86	0.745	16.4 ± 2.1	16.2 ± 2.1	0.402

BP, bisphenol; BPA, bisphenol A; BPS, bisphenol S; BPC, bisphenol C; BPE, bisphenol E; BPF, bisphenol F; BPG, bisphenol G; BPM, bisphenol M; BPP, bisphenol P; BPZ, bisphenol Z; BPFL, bisphenol FL; BPBP, bisphenol BP; fT4, free thyroxine; TSH, thyrotropin.

The term “detected” means that the concentration of selected bisphenol was above the limit of detection (LOD) presented in **Table S1**, see **Supplemental Material**. The term “not-detected” means that the concentration of selected bisphenol was below the LOD.

Results were calculated for 176 serum samples and for 177 urine samples.

Comparisons were performed with the Mann-Whitney U test. After Bonferroni correction results were claimed statistically significant with p value < 0.0033 (\*).



**FIGURE 4** | Relationship between thyrotropin (TSH) and bisphenol C (BPC). BPC, bisphenol C; TSH, thyrotropin. The term “detected” means that the concentration of bisphenol C was above the limit of detection (LOD) presented in **Table S1**, see **Supplemental Material**. The term “not-detected” means that the concentration of bisphenol C was below the LOD. The comparison was performed with the Mann-Whitney U test. After Bonferroni correction results were claimed statistically significant with p < 0.0033.

reported the negative correlation between urinary BPA and thyroid volume.

BPA has been shown to bind to the TR and therefore, affect the thyroid hormone signaling *in vitro*. Moriyama et al. (18) focused their attention on the resemblance of the chemical structures between BPA and thyroid hormone triiodothyronine (T3), where two benzene cores are linked by carbon (BPA) or oxygen (T3). The authors showed that BPA inhibits TR-mediated transcription by acting as an antagonist, suppressing transcriptional activity that is stimulated by T3 in a dose-dependent manner, but only in the presence of physiological concentrations of T3. Zoeller et al. (27) in an *in vivo* study on rats during pregnancy and lactation reported that dietary exposure to BPA led to an increase in serum T4 in pups, but did not alter serum TSH. These results are in contradiction to ours, where urine BPC concentration correlated positively with serum TSH, but not fT4 levels (in the current study T4 has not been measured). To the best of our knowledge no studies on human or animals have considered the influence of exposure to BPC on thyroid function. The change of thyroid volume together with the increase of TSH with unaltered fT4 seems to happen only at subclinical level. We suggest that thyroids exposed to BPC secrete less amounts of thyroid hormones, but without

statistical significance in fT4 levels. As a consequence, the level of TSH increases. In case of pregnancy overt hypothyroidism may be revealed that could contribute to an increased risk of neurodevelopmental disease, learning difficulties, language delay and IQ loss in offspring (40–42).

Kitamura et al. (19) performed a comparative study of the endocrine-disrupting activity of BPA and 19 related compounds in rats. Results from this *in vitro* study indicated significant thyroid hormonal activity toward rat pituitary cell line GH3 of the following selected BPA derivatives: tetrabromobisphenol A (TBBPA), tetrachlorobisphenol A (TCBPA), tetramethylbisphenol A (TMBPA), and 3,3'-dimethylbisphenol A. However, BPA and other analogs (such as BPF, BPS, and BPAF) did not show such action. These authors suggest that the 4-hydroxyl groups of the A phenyl ring and the B phenyl ring of BPA analogs are essential for these hormonal activities. Moreover, substituents at the 3,5-positions of the phenyl rings and the bridging alkyl moiety significantly modifies the thyroid hormonal activity. This could be the reason why in our study the only one BP that exhibited the relationship with thyroid functioning was BPC. The study presents strong relationship between thyroid and BPC, while the rest of the analyzed BPs did not show statistically significant trend for such relationships. Therefore, we suggest that the chemical structure of BPC most resembles T4 in that substituents of phenyl rings are as iodine ions in T4.

Hence, thyroid hormone disruption by BPs may not be solely explained by the interaction with the TR. Reports in the literature suggest other ways that BPs dysregulate thyroid hormone homeostasis at the transcriptional level. Lee et al. (26) in the *in vitro* study on the rat pituitary cell line (GH3) and the thyroid follicular cell line (FRTL-5) clearly indicated the down-regulation effect on *tsh $\beta$* , *tr $\alpha$* , *tr $\beta$* , *dio1*, and *dio2* genes in GH3 cells caused by BPA and its selected derivatives. The analogs, such as BPF, BPM, and BPZ, presented even stronger potency compared to BPA. On the other hand, in FRTL-5 cells after exposure to BPA, BPAF, BPAP, BPM, or BPS, at least one gene responsible for either thyroid hormone synthesis (*nis*, *tg*, or *tpo*) or their transcription factors (*pax8* and *nkx2.1*) exhibited over 1.5-fold up-regulation. In contrast, BPC, BPF, BPP, and BPZ did not lead to transcriptional changes of >1.5-fold. The conclusion is that exposure to BPs could up-regulate or down-regulate gene transcription that depends on the cell line and the type of the BP.

An advantage of the present study is that it was conducted in the homogenous group of female participants at similar age. All were inhabitants of the same Mazovian district, thus eliminating the study bias reflecting the influence of the environmental factors. On the other hand, the small sample size and cross-sectional design are the limitations of this study. It would be interesting to examine women after follow-up as well as to conduct studies in other populations, such as pregnant women, children and men. Also, the study considering mixtures of thyroid EDCs and their synergies would be of a great value, as these are what we are most likely exposed to.

In conclusion, to the best of our knowledge our study is the first to evaluate the potential effects of BPA and its 10 analogs on

the thyroid function and volume in women of reproductive age. This cross-sectional study presents that BPC impacts on the thyroid function and volume that might have negative effects on fertility and pregnancy outcomes in young women (43, 44). It is probably a result of resemblance in the chemical structure of BPC and T4. There is a strong need to conduct further studies in large human cohorts to estimate the relationship between BPA analogs and thyroid functioning and its morphology. Therefore, it is advised for the government to establish regulations for allowed thresholds and decide the authorization for common use of new chemicals.

## DATA AVAILABILITY STATEMENT

The database analyzed in this study is available for interested researchers in **Table S2**, see **Supplemental Material**.

## ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by Committee on Bioethics, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland. The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization: JM-B, PM, and TB. Methodology: JM-B, PM, KM-C, DR, and AW. Data collecting: JM-B and KM-C. Statistical analysis: JM-B. Writing—original draft preparation: JM-B and PM. Writing—review and editing: PM, TB, DR, AW, and KM-C. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to show their gratitude to Agnieszka Kondracka, Zbigniew Bartoszewicz, Katarzyna Owczarek, and Andrzej Berg for their involvement in the performance of all laboratory measurements.

## SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2020.587252/full#supplementary-material>



## REFERENCES

- Chen D, Kannan K, Tan H, Zheng Z, Feng YL, Wu Y, et al. Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity-A Review. *Environ Sci Technol* (2016) 50(11):5438–53. doi: 10.1021/acs.est.5b05387
- Zoeller RT, Brown TR, Doan LL, Gore AC, Skakkebaek NE, Soto AM, et al. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: a statement of principles from The Endocrine Society. *Endocrinology* (2012) 153(9):4097–110. doi: 10.1210/en.2012-1422
- La Merrill MA, Vandenberg LN, Smith MT, Goodson W, Browne P, Patisaul HB, et al. Consensus on the key characteristics of endocrine-disrupting chemicals as a basis for hazard identification. *Nat Rev Endocrinol* (2020) 16(1):45–57. doi: 10.1038/s41574-019-0273-8
- Braun JM, Hauser R. Bisphenol A and children's health. *Curr Opin Pediatr* (2011) 23(2):233–9. doi: 10.1097/MOP.0b013e3283445675
- Geens T, Goeyens L, Kannan K, Neels H, Covaci A. Levels of bisphenol-A in thermal paper receipts from Belgium and estimation of human exposure. *Sci Total Environ* (2012) 435–36:30–3. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.07.001
- Fenichel P, Chevalier N, Brucker-Davis F. Bisphenol A: an endocrine and metabolic disruptor. *Ann Endocrinol (Paris)* (2013) 74(3):211–20. doi: 10.1016/j.ando.2013.04.002
- Hehn RS. NHANES Data Support Link between Handling of Thermal Paper Receipts and Increased Urinary Bisphenol A Excretion. *Environ Sci Technol* (2016) 50(1):397–404. doi: 10.1021/acs.est.5b04059
- Rubin BS. Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *J Steroid Biochem Mol Biol* (2011) 127(1-2):27–34. doi: 10.1016/j.jsbmb.2011.05.002
- Carwile JL, Luu HT, Bassett LS, Driscoll DA, Yuan C, Chang JY, et al. Polycarbonate bottle use and urinary bisphenol A concentrations. *Environ Health Perspect* (2009) 117(9):1368–72. doi: 10.1289/ehp.0900604
- Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgarten FJ, Schoenfelder G. Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environ Health Perspect* (2010) 118(8):1055–70. doi: 10.1289/ehp.0901716
- Rachoń D. Endocrine disrupting chemicals (EDCs) and female cancer: Informing the patients. *Rev Endocr Metab Disord* (2015) 16(4):359–64. doi: 10.1007/s11154-016-9332-9
- Konduracka E, Krzemieniecki K, Gajos G. Relationship between everyday use cosmetics and female breast cancer. *Pol Arch Med Wewn* (2014) 124(5):264–9. doi: 10.20452/pamw.2257
- López-Carrillo L, Hernández-Ramírez RU, Calafat AM, Torres-Sánchez L, Galván-Portillo M, Needham LL, et al. Exposure to phthalates and breast cancer risk in northern Mexico. *Environ Health Perspect* (2010) 118(4):539–44. doi: 10.1289/ehp.0901091
- Wassenaar PNH, Trasande L, Legler J. Systematic Review and Meta-Analysis of Early-Life Exposure to Bisphenol A and Obesity-Related Outcomes in Rodents. *Environ Health Perspect* (2017) 125(10):106001. doi: 10.1289/EHP1233
- Konieczna A, Rachoń D, Owczarek K, Kubica P, Kowalewska A, Kudlak B, et al. Serum bisphenol A concentrations correlate with serum testosterone levels in women with polycystic ovary syndrome. *Reprod Toxicol* (2018) 82:32–7. doi: 10.1016/j.reprotox.2018.09.006
- Perera F, Nolte ELR, Wang Y, Margolis AE, Calafat AM, Wang S, et al. Bisphenol A exposure and symptoms of anxiety and depression among inner city children at 10–12 years of age. *Environ Res* (2016) 151:195–202. doi: 10.1016/j.envres.2016.07.028
- Chevrier J, Gunier RB, Bradman A, Holland NT, Calafat AM, Eskenazi B, et al. Maternal urinary bisphenol a during pregnancy and maternal and neonatal thyroid function in the CHAMACOS study. *Environ Health Perspect* (2013) 121(1):138–44. doi: 10.1289/ehp.1205092
- Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N, et al. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *J Clin Endocrinol Metab* (2002) 87(11):5185–90. doi: 10.1210/jc.2002-020209
- Kitamura S, Suzuki T, Sanoh S, Kohta R, Jinno N, Sugihara K, et al. Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicol Sci* (2005) 84(2):249–59. doi: 10.1093/toxsci/kfi074
- Jansen TA, Korevaar TIM, Mulder TA, White T, Muetzel RL, Peeters RP, et al. Maternal thyroid function during pregnancy and child brain morphology: a time window-specific analysis of a prospective cohort. *Lancet Diabetes Endocrinol* (2019) 7(8):629–37. doi: 10.1016/S2213-8587(19)30153-6
- Ajmani SN, Aggarwal D, Bhatia P, Sharma M, Sarabhai V, Paul M. Prevalence of overt and subclinical thyroid dysfunction among pregnant women and its effect on maternal and fetal outcome. *J Obstet Gynaecol India* (2014) 64(2):105–10. doi: 10.1007/s13224-013-0487-y
- Negro R, Schwartz A, Gismondi R, Tinelli A, Mangieri T, Stagnaro-Green A. Increased pregnancy loss rate in thyroid antibody negative women with TSH levels between 2.5 and 5.0 in the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* (2010) 95(9):E44–8. doi: 10.1210/jc.2010-0340
- Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, Azizi F, Mestman J, Negro R, et al. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid* (2011) 21(10):1081–125. doi: 10.1089/thy.2011.0087
- Lazarus J, Brown RS, Daumerie C, Hubalewska-Dydejczyk A, Negro R, Vaidya B. 2014 European thyroid association guidelines for the management of subclinical hypothyroidism in pregnancy and in children. *Eur Thyroid J* (2014) 3(2):76–94. doi: 10.1159/000362597
- Lee J, Kim S, Choi K, Ji K. Effects of bisphenol analogs on thyroid endocrine system and possible interaction with 17 $\beta$ -estradiol using GH3 cells. *Toxicol In Vitro* (2018) 53:107–13. doi: 10.1016/j.tiv.2018.08.005
- Lee S, Kim C, Youn H, Choi K. Thyroid hormone disrupting potentials of bisphenol A and its analogues - in vitro comparison study employing rat pituitary (GH3) and thyroid follicular (FRTL-5) cells. *Toxicol In Vitro* (2017) 40:297–304. doi: 10.1016/j.tiv.2017.02.004
- Zoeller RT, Bansal R, Parris C. Bisphenol-A, an environmental contaminant that acts as a thyroid hormone receptor antagonist in vitro, increases serum thyroxine, and alters RC3/neurogranin expression in the developing rat brain. *Endocrinology* (2005) 146(2):607–12. doi: 10.1210/en.2004-1018
- Higashihara N, Shiraishi K, Miyata K, Oshima Y, Minobe Y, Yamasaki K. Subacute oral toxicity study of bisphenol F based on the draft protocol for the “Enhanced OECD Test Guideline no. 407”. *Arch Toxicol* (2007) 81(12):825–32. doi: 10.1007/s00204-007-0223-4
- Lee S, Kim C, Shin H, Kho Y, Choi K. Comparison of thyroid hormone disruption potentials by bisphenols A, S, F, and Z in embryo-larval zebrafish. *Chemosphere* (2019) 221:115–23. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.01.019
- Wang N, Zhou Y, Fu C, Wang H, Huang P, Wang B, et al. Influence of Bisphenol A on Thyroid Volume and Structure Independent of Iodine in School Children. *PLoS One* (2015) 10(10):e0141248. doi: 10.1371/journal.pone.0141248
- Correia-Sá L, Kasper-Sonnenberg M, Schütze A, Pálmke C, Norberto S, Calhau C, et al. Exposure assessment to bisphenol A (BPA) in Portuguese children by human biomonitoring. *Environ Sci Pollut Res Int* (2017) 24(35):27502–14. doi: 10.1007/s11356-017-0358-7
- Kolatorova L, Vitku J, Hampl R, Adamcova K, Skodova T, Simkova M, et al. Exposure to bisphenols and parabens during pregnancy and relations to steroid changes. *Environ Res* (2018) 163:115–22. doi: 10.1016/j.envres.2018.01.031
- Trzebińska A, Dobruch-Sobczak K, Jakubowski W, Jędrzejowski M. Standards of the Polish Ultrasound Society - update. Ultrasound examination of thyroid gland and ultrasound-guided thyroid biopsy. *J Ultrason* (2014) 14(56):49–60. doi: 10.15557/JoU.2014.0005
- Grant EG, Tessler FN, Hoang JK, Langer JE, Beland MD, Berland LL, et al. Thyroid Ultrasound Reporting Lexicon: White Paper of the ACR Thyroid Imaging, Reporting and Data System (TIRADS) Committee. *J Am Coll Radiol* (2015) 12(12 Pt A):1272–9. doi: 10.1016/j.jacr.2015.07.011
- Aumont G, Tressol JC. Rapid method for the direct determination of inorganic iodine in plasma using ion-exchange chromatography and the Sandell and Kolthoff reaction. *Analyst* (1987) 112(6):875–8. doi: 10.1039/an9871200875
- Delanghe JR, Speckaert MM. Creatinine determination according to Jaffe-what does it stand for? *NDT Plus* (2011) 4(2):83–6. doi: 10.1093/ndtplus/sfq211
- Owczarek K, Kubica P, Kudlak B, Rutkowska A, Konieczna A, Rachoń D, et al. Determination of trace levels of eleven bisphenol A analogues in human blood serum by high performance liquid chromatography-tandem mass

- spectrometry. *Sci Total Environ* (2018) 628–629:1362–8. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.02.148
38. Calafat AM, Kuklenyik Z, Reidy JA, Caudill SP, Ekong J, Needham LL. Urinary concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference population. *Environ Health Perspect* (2005) 113(4):391–5. doi: 10.1289/ehp.7534
39. Wolff MS, Teitelbaum SL, Windham G, Pinney SM, Britton JA, Chelimo C, et al. Pilot study of urinary biomarkers of phytoestrogens, phthalates, and phenols in girls. *Environ Health Perspect* (2007) 115(1):116–21. doi: 10.1289/ehp.9488
40. Demeneix BA. Evidence for Prenatal Exposure to Thyroid Disruptors and Adverse Effects on Brain Development. *Eur Thyroid J* (2019) 8(6):283–92. doi: 10.1159/000504668
41. Korevaar TI, Muetzel R, Medici M, Chaker L, Jaddoe VW, de Rijke YB, et al. Association of maternal thyroid function during early pregnancy with offspring IQ and brain morphology in childhood: a population-based prospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol* (2016) 4(1):35–43. doi: 10.1016/S2213-8587(15)00327-7
42. Duntas LH. Chemical contamination and the thyroid. *Endocrine* (2015) 48(1):53–64. doi: 10.1007/s12020-014-0442-4
43. Pivonello C, Muscogiuri G, Nardone A, Garifalos F, Provisiero DP, Verde N, et al. Bisphenol A: an emerging threat to female fertility. *Reprod Biol Endocrinol* (2020) 18(1):22. doi: 10.1186/s12958-019-0558-8
44. Ziv-Gal A, Flaws JA. Evidence for bisphenol A-induced female infertility: a review (2007–2016). *Fertil Steril* (2016) 106(4):827–56. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.06.027

**Conflict of Interest:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2021 Milczarek-Banach, Rachoń, Bednarczuk, Myśliwiec-Czajka, Wasik and Miśkiewicz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

### **6.3. The role of bisphenol A and its analogues as endocrine disruptors influencing the thyroid gland: a short review**

# The role of bisphenol A and its analogues as endocrine disruptors influencing the thyroid gland: a short review

Justyna Milczarek-Banach

Department of Internal Medicine and Endocrinology,  
Medical University of Warsaw

 <https://orcid.org/0000-0001-6548-6118>

Piotr Miśkiewicz

Department of Internal Medicine and Endocrinology,  
Medical University of Warsaw


 <https://orcid.org/0000-0003-4015-6491>

Corresponding author: [piotr.miskiewicz@wum.edu.pl](mailto:piotr.miskiewicz@wum.edu.pl)

**Keywords:** bisphenol A, thyroid, hypothyroidism, endocrine disrupting chemical, plastic, autoimmunity

**Published:** 2020-09-30

**How to cite:** Milczarek-Banach J, Miśkiewicz P. The role of bisphenol A and its analogues as endocrine disruptors influencing the thyroid gland: a short review. *JMS* [Internet]. 2020 Sep 30;89(3):e441. doi:10.20883/medical.e441

 DOI: <https://doi.org/10.20883/medical.e441>



© 2020 by the author(s). This is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY-NC) license. Published by Poznan University of Medical Sciences

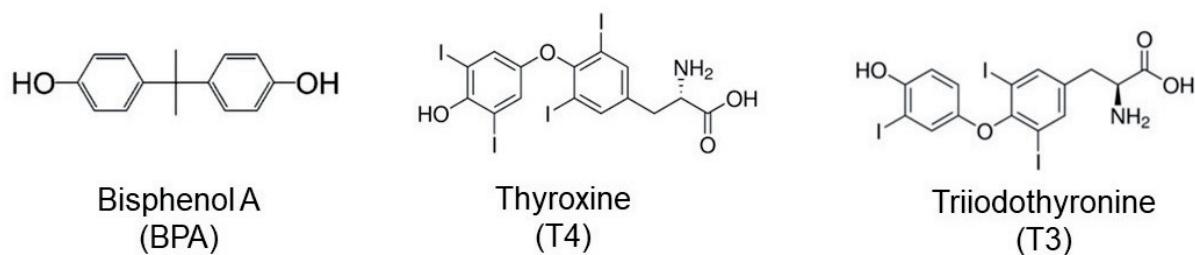
## ABSTRACT

Bisphenols (BPs) are common plastic additives widely used in industry, hence, human exposure to BPs is inevitable. The best known BP is bisphenol A (BPA), the production of which and its analogues has been increasing worldwide. This chemical is classified as an endocrine-disrupting chemical, interfering with hormonal homeostasis. Indeed, BPA is associated with the development of oestrogen-dependent neoplasms, infertility, metabolic disorders and neurobehavioral disturbances. However, there is a lack of evidence regarding the impact of BPA and its analogues on the thyroid, with most studies mainly performed on animals or in vitro. This review aims to summarise the knowledge regarding the relationship between BPA and its analogues on the thyroid gland.

## Introduction

Bisphenols (BPs) are common plastic additives widely used in industry. They are products in the manufacture of polycarbonate plastics, such as water bottles, toys, food boxes, teething rings, baby pacifiers, thermal paper, inner linings of beverage and food containers, dental sealants, epoxy resins [1-6]. People are exposed to BPs mainly due to contaminated food, especially in high temperatures or acidic conditions [6, 7]. Nonetheless, the other possibilities of exposure to BPs include transdermal or inhalation routes [8].

The most common BP is bisphenol A (BPA; 4,4'-isopropylidenediphenol), which is composed of two benzene rings and two 4,4'-OH substituents (**Figure 1**). Since its industrial application, many studies have revealed the harmful effects of this chemical on human health, especially on hormonal homeostasis. Subsequently, BPA has been classified as an endocrine-disrupting chemical (EDC) [5, 9-11]. BPs act as xenoestrogens, impacting the development of oestrogen-dependent neoplasms (e.g., breast or endometrial cancers) [12-14], as well as being associated with infertility [15] and polycystic ovary syndrome [16]. More-



**Figure 1.** Chemical structures of bisphenol A, thyroxine and triiodothyronine

over, BPA may contribute to the development of metabolic disorders (e.g., insulin resistance, diabetes, obesity) [17] and neurobehavioral disturbances [18]. Furthermore, the specific molecular structure that mimics thyroid hormones allows BPA to influence thyroid hormone homeostasis [19-21] but most of these studies were conducted *in vitro* [19, 22, 23] or on animals [24, 25].

## Types of BPA analogues

Since the use of BPA in products for children has been prohibited, the large-scale production of BPA analogues has escalated. Ideally, substitutes intended to replace a specific chemical should be less toxic than the original substance. Unfortunately, many chemical replacements introduced into the industry have never been studied and are often more harmful than the original chemical.

BPA analogues are compounds with a chemical structure similar to BPA, which means they include at least two phenyl rings, but their substituents differ depending on the type of the analogue (i.e., methyl, bromine or chlorine substituents in 3,3' or 3,5-positions of the phenyl rings). BPA analogues include bisphenol F (BPF), bisphenol B (BPB), bisphenol Z (BPZ), bisphenol C (BPC), bisphenol P (BPP), bisphenol M (BPM), bisphenol AP (BPAP), bisphenol AF (BPAF), bisphenol AD (BPAD), tetrabromobisphenol A (TBBPA), tetrachlorobisphenol A (TCBPA), tetramethylbisphenol A (TMBPA), and dimethylbisphenol A (DMBPA) [19, 22, 23, 26].

## Metabolism of BPA

After oral consumption, BPA undergoes first-pass metabolism in the intestine and liver, then it

is metabolised by UDP-glucuronosyltransferase in the liver. After glucuronidation, BPA is eliminated via renal clearance within 24 hours [27]. Nonetheless, there is a concern about the other **routes** of human exposure to BPA, mainly via inhalation or transdermally, which bypass the first pass in the gastrointestinal tract, hence there is a longer exposure to unconjugated BPA. It is well documented in the literature that BPA is ubiquitous and has been measured in a variety of human body fluids [28] including placenta, maternal milk and amniotic fluid [29, 30]. The detection rates of BPs differ according to the detection method used (LC-MS, GC-MS, HPLC, HPLS-MS/MS) and the form of BPs (conjugated, unconjugated or total). Importantly, there is a lack of information regarding the metabolism of BPA analogues in humans.

## Mechanisms of action of BPs on the thyroid

BPs can interact with the thyroid gland via a variety of routes, therefore, the potential crosstalk needs to be considered at multiple levels. BPA is the first environmental chemical known to bind to the thyroid receptor (TR) and affect thyroid hormone homeostasis *in vitro* [25]. Lee et al. [22], as well as Moriyama et al. [21], suggested that BPA can influence thyroid hormones at the transcriptional level. Moreover, Schmutzler et al. [31] reported that BPA interferes with thyroid function by inhibiting recombinant thyroid peroxidase (TPO) activity. Furthermore, an *in vitro* study of Kudo et al. [32] found the antagonistic ability of BPA derivatives to triiodothyronine (T3) in binding to transthyretin (TTR), which is the transport protein for thyroid hormones.

## Influence of BPs on thyroid function

The results regarding the influence of BPs on thyroid function are conflicting and depend on the study design (in vivo or in vitro) and the examined group (human, animals, cell lines). According to in vitro studies of rat pituitary (GH3) cells, BPs (BPA, BPAF, BPAP, BPB, BPC, BPF, BPM, BPP, BPZ) have an agonistic effect on thyroid hormones, which is dose- and time-dependent [23]. Co-exposure of GH3 cells to 17 $\beta$ -oestradiol enhanced this effect. Similarly, in another study [22] on rat pituitary (GH3) and thyroid follicular (FRTL-5) cells, the authors suggested that the results were different according to cell type, with BPA and its analogues (BPAF, BPAP, BPB, BPF, BPM, BPP, BPS, BPZ, BPC) significantly downregulating *tsh $\beta$* , *tra*, *tr $\beta$* , *dio1* or *dio2* genes in GH3 cells, whereas in FRTL-5 cells, the genes responsible for hormone synthesis were upregulated. Furthermore, in the first in vitro study on the influence of BPA on thyroid [21], BPA antagonised T3 action at the transcriptional level in a dose-dependent manner. Kitamura et al. [19] reported that in the rat pituitary cell line GH3, selected BPs exhibited thyroid hormonal activity (TBBPA, TCBPA, TMBPA), while others (BPA, BPF, BPS, BPAF, BPAD, BPB, DMBPA) did not show such effect. The authors suggested that the chemical structure (the type of substituents of the phenyl rings of BPs) is crucial for the thyroid hormonal activity, particularly, hydroxyl groups in 4,4'-positions and methyl, bromine or chlorine in 3, 3', 5 and 5'-positions of the phenyl rings.

The results of the animal studies are inconsistent. Perinatal exposure to BPA in pups [33] or adult polecats [34] did not show any statistically significant influence on thyroid hormones, whereas there was a positive relationship between concentrations of BPA and thyroxine (T4) levels in rats [25]. Also, Lee et al. [26] demonstrated that selected BPs disrupted thyroid hormone levels by increasing T3 and T4 in embryo-larval zebrafish, suggesting that the potency of BPA analogues could be even stronger than that of BPA. It is of note that BPA derivatives could be more harmful than BPA as they act in much lower concentrations than BPA itself.

Regarding human studies, the data considering the relationship between BPs and thyrotropin (TSH) and T4 are conflicting. According to correlations between TSH and BPs in humans, there is an

inverse relationship in both sexes [35] and only in women [36], suggesting that exposure to BPs may lead to the development of hyperthyroidism. Also, Meeker et al. [37] measured BPA concentrations in the urine of 1346 adults and 329 adolescents (aged 1–19 years) from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) in the period 2007–2008, observing a suggestive inverse association (but without statistical significance) between urinary BPA and TSH. In contrast, Andrianou et al. [28] suggested a positive correlation between BPA with its derivatives and TSH, which could lead to the development of hypothyroidism. Furthermore, there was a positive association between urinary BPA and serum TSH in lean individuals [38]. Taking into the consideration that BPs influence thyroid hormones in humans, the authors of several studies in pregnant women reported that BPA levels were positively [35] or inversely [20] correlated with maternal T4 levels, with two other studies found no association [36, 39].

## BPs influence on the formation of thyroid nodules

Nodular goitre and thyroid cancer are related to endogenous oestrogen activity [40–42], hence, as a xenoestrogen, BPA could impact the formation of thyroid nodules. Zhou et al. [43] showed that higher BPA concentrations in urine are potentially linked to the genesis of nodular goitre and papillary thyroid carcinoma (PTC), with women with nodular goitre and PTC having higher concentrations of BPA than men. Moreover, females from the PTC group presented lower urinary BPA levels than those of the nodular goitre group. Furthermore, Marotta et al. [44] described a dose-independent correlation between BPAF and the risk of development of differentiated thyroid cancer in subjects with thyroid nodules. Li et al. [45] also showed a significant association between BPA and a higher risk of thyroid nodules in Chinese women, but only in subjects with positive TgAb and TPOAb, whereas Wang et al. [46] observed a negative correlation between urinary BPA and the risk of forming multinodular goitre, but not of solitary thyroid nodules in schoolchildren. In another study, Andrianou et al. [28] reported no association between BPs and higher risk of thyroid nodules in adult females.

## BPs influence on autoimmune thyroid disease

Several studies have assessed the relationship between BPA and the development of autoimmune diseases, including autoimmune thyroid disease [47-49]. BPA can affect the immune system directly and indirectly [50]. Özaydın et al. [48] proved the influence of BPA on the alteration of immune parameters, such as cytokine profile and the distribution of CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T lymphocytes in rats which can result in the development of immunodeficiencies and autoimmune diseases. Also, two case reports described the possible relationships between BPA exposure and immune system-related diseases [51, 52]. Chailurkit et al. [47] also documented the independent, statistically significant association between BPA and thyroid peroxidase antibodies (TPOAb).

## Conclusions

In conclusion, the results of the studies concerning the impact of BPs on the thyroid are conflicting and are dependent on the study design and the detection methods used. It seems that BPA derivatives could be even more harmful to humans than BPA as they could act in much lower concentrations than BPA itself. As the exposure to these endocrine disruptors is inevitable, there is a strong need for large randomised human trials to establish the potentially detrimental effects of BPA and its analogues before their industrial application.

## Acknowledgements

### Conflict of interest statement

The authors declare no conflict of interest.

### Funding sources

There are no sources of funding to declare.

## References

1. Braun JM, Hauser R. Bisphenol A and children's health. *Current Opinion in Pediatrics*. 2011 Apr;23(2):233-239. <https://doi.org/10.1097/mop.0b013e3283445675>

2. Carwile JL, Luu HT, Bassett LS, Driscoll DA, Yuan C, Chang JY, Ye X, Calafat AM, Michels KB. Polycarbonate Bottle Use and Urinary Bisphenol A Concentrations. *Environmental Health Perspectives*. 2009 Sep;117(9):1368-1372. <https://doi.org/10.1289/ehp.0900604>

3. Fenichel P, Chevalier N, Brucker-Davis F. Bisphenol A: An endocrine and metabolic disruptor. *Annales d'Endocrinologie*. 2013 Jul;74(3):211-220. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2013.04.002>
4. Geens T, Goeyens L, Kannan K, Neels H, Covaci A. Levels of bisphenol-A in thermal paper receipts from Belgium and estimation of human exposure. *Science of The Total Environment*. 2012 Oct;435-436:30-33. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.07.001>
5. Hehn RS. NHANES Data Support Link between Handling of Thermal Paper Receipts and Increased Urinary Bisphenol A Excretion. *Environmental Science & Technology*. 2015 Dec 17;50(1):397-404. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04059>
6. Rubin BS. Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2011 Oct;127(1-2):27-34. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.05.002>
7. Geens T, Aerts D, Berthot C, Bourguignon J, Goeyens L, Lecomte P, Maghuin-Rogister G, Pironnet A, Pussemier L, Scippo M, Van Loco J, Covaci A. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food and Chemical Toxicology*. 2012 Oct;50(10):3725-3740. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.07.059>
8. Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgarten FJ, Schoenfelder G. Urinary, Circulating, and Tissue Biomonitoring Studies Indicate Widespread Exposure to Bisphenol A. *Environmental Health Perspectives*. 2010 Aug;118(8):1055-1070. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901716>
9. La Merrill MA, Vandenberg LN, Smith MT, Goodson W, Browne P, Patisaul HB, Guyton KZ, Kortenkamp A, Cogliano VJ, Woodruff TJ, Rieswijk L, Sone H, Korach KS, Gore AC, Zeise L, Zoeller RT. Consensus on the key characteristics of endocrine-disrupting chemicals as a basis for hazard identification. *Nature Reviews Endocrinology*. 2019 Nov 12;16(1):45-57. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0273-8>
10. Zoeller RT, Brown TR, Doan LL, Gore AC, Skakkebaek NE, Soto AM, Woodruff TJ, Vom Saal FS. Endocrine-Disrupting Chemicals and Public Health Protection: A Statement of Principles from The Endocrine Society. *Endocrinology*. 2012 Sep 1;153(9):4097-4110. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1422>
11. Rutkowska A, Rachoń D, Milewicz A, Ruchała M, Bolanowski M, Jędrzejuk D, Bednarczuk T, Górńska M, Hubalewska-Dydejczyk A, Kos-Kudła B, Lewiński A, Zgliczyński W. Polish Society of Endocrinology Position statement on endocrine disrupting chemicals (EDCs). *Endokrynologia Polska*. 2015;66(3):276-85. <https://doi.org/10.5603/EP.2015.0035>
12. Konduracka E, Krzemieniecki K, Gajos G. Relationship between everyday use cosmetics and female breast cancer. *Polish Archives of Internal Medicine*. 2014 Apr 2;124(5):264-269. <https://doi.org/10.20452/pamw.2257>
13. López-Carrillo L, Hernández-Ramírez RU, Calafat AM, Torres-Sánchez L, Galván-Portillo M, Needham LL, Ruiz-Ramos R, Cebrián ME. Exposure to Phthalates and Breast Cancer Risk in Northern Mexico. *Environ-*

- mental Health Perspectives. 2010 Apr;118(4):539-544. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901091>
14. Rutkowska AZ, Szybiak A, Serkies K, Rachoń D. Endocrine disrupting chemicals as the potential risk factor for estrogen-dependent cancers. *Polish Archives of Internal Medicine*. 2016 Aug 9; <https://doi.org/10.20452/pamw.3481>
  15. Mantzouki C, Bliatka D, Iliadou PK, Margeli A, Pappasotiropoulos I, Mastorakos G, Kousta E, Goulis DG. Serum Bisphenol A concentrations in men with idiopathic infertility. *Food and Chemical Toxicology*. 2019 Mar;125:562-565. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.02.016>
  16. Konieczna A, Rachoń D, Owczarek K, Kubica P, Kowalewska A, Kudłak B, Wasik A, Namieśnik J. Serum bisphenol A concentrations correlate with serum testosterone levels in women with polycystic ovary syndrome. *Reproductive Toxicology*. 2018 Dec;82:32-37. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2018.09.006>
  17. Wassenaar PNH, Trasande L, Legler J. Systematic Review and Meta-Analysis of Early-Life Exposure to Bisphenol A and Obesity-Related Outcomes in Rodents. *Environmental Health Perspectives*. 2017 Oct 3;125(10):106001. <https://doi.org/10.1289/ehp1233>
  18. Perera F, Nolte EL, Wang Y, Margolis AE, Calafat AM, Wang S, Garcia W, Hoepner LA, Peterson BS, Rauh V, Herbstman J. Bisphenol A exposure and symptoms of anxiety and depression among inner city children at 10–12 years of age. *Environmental Research*. 2016 Nov;151:195-202. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.07.028>
  19. Kitamura S. Comparative Study of the Endocrine-Disrupting Activity of Bisphenol A and 19 Related Compounds. *Toxicological Sciences*. 2005 Jan 19;84(2):249-259. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfi074>
  20. Chevrier J, Gunier RB, Bradman A, Holland NT, Calafat AM, Eskenazi B, Harley KG. Maternal Urinary Bisphenol A during Pregnancy and Maternal and Neonatal Thyroid Function in the CHAMACOS Study. *Environmental Health Perspectives*. 2013 Jan;121(1):138-144. <https://doi.org/10.1289/ehp.1205092>
  21. Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N, Hataya Y, Shimatsu A, Kuzuya H, Nakao K. Thyroid Hormone Action Is Disrupted by Bisphenol A as an Antagonist. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002 Nov 1;87(11):5185-5190. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-020209>
  22. Lee S, Kim C, Youn H, Choi K. Thyroid hormone disrupting potentials of bisphenol A and its analogues - in vitro comparison study employing rat pituitary (GH3) and thyroid follicular (FRTL-5) cells. *Toxicology in Vitro*. 2017 Apr;40:297-304. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.02.004>
  23. Lee J, Kim S, Choi K, Ji K. Effects of bisphenol analogs on thyroid endocrine system and possible interaction with 17β-estradiol using GH3 cells. *Toxicology in Vitro*. 2018 Dec;53:107-113. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2018.08.005>
  24. Higashihara N, Shiraiishi K, Miyata K, Oshima Y, Minobe Y, Yamasaki K. Subacute oral toxicity study of bisphenol F based on the draft protocol for the "Enhanced OECD Test Guideline no. 407". *Archives of Toxicology*. 2007 Jul 13;81(12):825-832. <https://doi.org/10.1007/s00204-007-0223-4>
  25. Zoeller RT, Bansal R, Parris C. Bisphenol-A, an Environmental Contaminant that Acts as a Thyroid Hormone Receptor Antagonist in Vitro, Increases Serum Thyroxine, and Alters RC3/Neurogranin Expression in the Developing Rat Brain. *Endocrinology*. 2005 Feb 1;146(2):607-612. <https://doi.org/10.1210/en.2004-1018>
  26. Lee S, Kim C, Shin H, Kho Y, Choi K. Comparison of thyroid hormone disruption potentials by bisphenols A, S, F, and Z in embryo-larval zebrafish. *Chemosphere*. 2019 Apr;221:115-123. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.019>
  27. Völkel W, Colnot T, Csanády GA, Filser JG, Dekant W. Metabolism and Kinetics of Bisphenol A in Humans at Low Doses Following Oral Administration. *Chemical Research in Toxicology*. 2002 Oct;15(10):1281-1287. <https://doi.org/10.1021/tx025548t>
  28. Andrianou XD, Gängler S, Piciu A, Charisiadis P, Zira C, Aristidou K, Piciu D, Hauser R, Makris KC. Human Exposures to Bisphenol A, Bisphenol F and Chlorinated Bisphenol A Derivatives and Thyroid Function. *Carvalho DPD. PLOS ONE*. 2016 Oct 26;11(10):e0155237. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155237>
  29. Calafat AM, Kuklennyik Z, Reidy JA, Caudill SP, Ekong J, Needham LL. Urinary Concentrations of Bisphenol A and 4-Nonylphenol in a Human Reference Population. *Environmental Health Perspectives*. 2005 Apr;113(4):391-395. <https://doi.org/10.1289/ehp.7534>
  30. Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology*. 2007 Aug;24(2):139-177. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.07.010>
  31. Schmutzler C, Bacinski A, Gotthardt I, Huhne K, Ambrügger P, Klammer H, Schlecht C, Hoang-Vu C, Grüters A, Wuttke W, Jarry H, Köhrle J. The Ultraviolet Filter Benzophenone 2 Interferes with the Thyroid Hormone Axis in Rats and Is a Potent in Vitro Inhibitor of Human Recombinant Thyroid Peroxidase. *Endocrinology*. 2007 Jun 1;148(6):2835-2844. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1280>
  32. Kudo Y. In Vitro and in Vivo Analysis of the Thyroid Disrupting Activities of Phenolic and Phenol Compounds in *Xenopus laevis*. *Toxicological Sciences*. 2005 Jan 5;84(1):29-37. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfi049>
  33. Xu X, Liu Y, Sadamatsu M, Tsutsumi S, Akaike M, Ushijima H, Kato N. Perinatal bisphenol A affects the behavior and SRC-1 expression of male pups but does not influence on the thyroid hormone receptors and its responsive gene. *Neuroscience Research*. 2007 Jun;58(2):149-155. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2007.02.011>
  34. Nieminen P, Lindström-Seppä P, Juntunen M, Asikainen J, Mustonen A, Karonen S, Mussalo-Rauhamaa H, Kukkonen J. In vivo effects of bisphenol A on the polecat (*Mustela putorius*). *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*. 2002;65:933-45.



35. Aung MT, Johns LE, Ferguson KK, Mukherjee B, McElrath TF, Meeker JD. Thyroid hormone parameters during pregnancy in relation to urinary bisphenol A concentrations: A repeated measures study. *Environment International*. 2017 Jul;104:33-40. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.04.001>
36. Romano ME, Webster GM, Vuong AM, Thomas Zoeller R, Chen A, Hoofnagle AN, Calafat AM, Karagas MR, Yoltan K, Lanphear BP, Braun JM. Gestational urinary bisphenol A and maternal and newborn thyroid hormone concentrations: The HOME Study. *Environmental Research*. 2015 Apr;138:453-460. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.03.003>
37. Meeker JD, Ferguson KK. Relationship between Urinary Phthalate and Bisphenol A Concentrations and Serum Thyroid Measures in U.S. Adults and Adolescents from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2007–2008. *Environmental Health Perspectives*. 2011 Oct;119(10):1396-1402. <https://doi.org/10.1289/ehp.1103582>
38. Geens T, Dirtu AC, Dirinck E, Malarvannan G, Van Gaal L, Jorens PG, Covaci A. Daily intake of bisphenol A and triclosan and their association with anthropometric data, thyroid hormones and weight loss in overweight and obese individuals. *Environment International*. 2015 Mar;76:98-105. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.12.003>
39. Minatoya M, Sasaki S, Araki A, Miyashita C, Itoh S, Yamamoto J, Matsumura T, Mitsui T, Moriya K, Cho K, Morioka K, Minakami H, Shinohara N, Kishi R. Cord Blood Bisphenol A Levels and Reproductive and Thyroid Hormone Levels of Neonates. *Epidemiology*. 2017 Oct;28:S3-S9. <https://doi.org/10.1097/ede.0000000000000716>
40. Derwahl M, Nicula D. Estrogen and its role in thyroid cancer. *Endocrine Related Cancer*. 2014 Jul 22;21(5):T273-T283. <https://doi.org/10.1530/erc-14-0053>
41. Klinge. Estradiol-induced proliferation of papillary and follicular thyroid cancer cells is mediated by estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *International Journal of Oncology*. 2010 Mar 24;36(5). [https://doi.org/10.3892/ijo\\_00000588](https://doi.org/10.3892/ijo_00000588)
42. Liu J, Chen G, Meng X, Liu Z, Dong S. Serum levels of sex hormones and expression of their receptors in thyroid tissue in female patients with various types of thyroid neoplasms. *Pathology - Research and Practice*. 2014 Dec;210(12):830-835. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2014.09.002>
43. Zhou Z, Zhang J, Jiang F, Xie Y, Zhang X, Jiang L. Higher urinary bisphenol A concentration and excessive iodine intake are associated with nodular goiter and papillary thyroid carcinoma. *Bioscience Reports*. 2017 Jul 27;37(4). <https://doi.org/10.1042/bsr20170678>
44. Marotta V, Russo G, Gambardella C, Grasso M, La Sala D, Chiofalo MG, D'Anna R, Puzziello A, Docimo G, Masone S, Barbato F, Colao A, Faggiano A, Grumetto L. Human exposure to bisphenol AF and diethylhexylphthalate increases susceptibility to develop differentiated thyroid cancer in patients with thyroid nodules. *Chemosphere*. 2019 Mar;218:885-894. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.084>
45. Li L, Ying Y, Zhang C, Wang W, Li Y, Feng Y, Liang J, Song H, Wang Y. Bisphenol A exposure and risk of thyroid nodules in Chinese women: A case-control study. *Environment International*. 2019 May;126:321-328. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.02.026>
46. Wang N, Zhou Y, Fu C, Wang H, Huang P, Wang B, Su M, Jiang F, Fang H, Zhao Q, Chen Y, Jiang Q. Influence of Bisphenol A on Thyroid Volume and Structure Independent of Iodine in School Children. *Gao C. PLOS ONE*. 2015 Oct 23;10(10):e0141248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141248>
47. Chailurkit L, Aekplakorn W, Ongphiphadhanakul B. The Association of Serum Bisphenol A with Thyroid Autoimmunity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2016 Nov 17;13(11):1153. <https://doi.org/10.3390/ijerph13111153>
48. Özyayın T, Öznurlu Y, Sur E, Çelik İ, Uluişik D. The effects of bisphenol A on some plasma cytokine levels and distribution of CD8+ and CD4+ T lymphocytes in spleen, ileal Peyer's patch and bronchus associated lymphoid tissue in rats. *Acta Histochemica*. 2018 Nov;120(8):728-733. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.08.002>
49. Aljadef G, Longhi E, Shoenfeld Y. Bisphenol A: A notorious player in the mosaic of autoimmunity. *Autoimmunity*. 2018 Nov 17;51(8):370-377. <https://doi.org/10.1080/08916934.2018.1551374>
50. Kharrazian D. The Potential Roles of Bisphenol A (BPA) Pathogenesis in Autoimmunity. *Autoimmune Diseases*. 2014;2014:1-12. <https://doi.org/10.1155/2014/743616>
51. Jensen CD, Andersen KE. Two cases of occupational allergic contact dermatitis from a cycloaliphatic epoxy resin in a neat oil: Case Report. *Environmental Health*. 2003 Mar 26;2(1). <https://doi.org/10.1186/1476-069x-2-3>
52. Hannu T, Frilander H, Kauppi P, Kuuliala O, Alanko K. IgE-Mediated Occupational Asthma from Epoxy Resin. *International Archives of Allergy and Immunology*. 2009;148(1):41-44. <https://doi.org/10.1159/000151504>

## 6. Podsumowanie

Wytyczne różnych towarzystw endokrynologicznych dotyczące kobiet planujących ciążę uwzględniają badania przesiewowe stężenia TSH u wszystkich bądź identyfikację poszczególnych osób będących w grupie ryzyka rozwoju choroby tarczycy (6, 16, 17, 48, 49). „Mała tarczyca” niezwiązana z autoimmunizacyjnym zapaleniem tarczycy stanowi jedną z prawdopodobnych przyczyn niedoczynności tarczycy u niektórych pacjentów (9). Dlatego też wydaje się, że warto włączyć kobiety z „małą tarczycą” w okresie planowania ciąży do grupy osób szczególnie narażonych na rozwój niedoczynności tarczycy.

W publikacjach prezentowanych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej skupiono się na ocenie znaczenia „małej tarczycy” jako czynnika predykcyjnego występowania niedoczynności tarczycy u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy. Dodatkowo przeprowadzono analizę związku narażenia na BPA i jego analogi z objętością i funkcją tarczycy.

W **pracy nr 1** udowodniono ujemną korelację pomiędzy objętością tarczycy a stężeniem TSH. Biorąc pod uwagę fakt, że objętość tarczycy jest ujemnie skorelowana ze stężeniem TSH, a nawet subkliniczna niedoczynność tarczycy może mieć negatywny wpływ na płodność, przebieg ciąży oraz zdrowie płodu, za istotne uznano znalezienie dolnej granicy normy objętości tarczycy wśród kobiet w wieku rozrodczym. W **pracy nr 1** udowodniono, że objętość tarczycy  $<9$  ml stanowi istotny statystycznie czynnik predykcyjny występowania TSH  $>2.5$   $\mu\text{IU/ml}$  u młodych kobiet bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy. „Mała tarczyca” dotyczyła ok. 40% badanych kobiet. Oznacza to, że „mała tarczyca” stanowi dość częsty problem u młodych kobiet, a USG tarczycy przed planowaną ciążą jest cennym dodatkowym narzędziem w diagnostyce kobiet szczególnie narażonych na rozwój niedoczynności tarczycy w ciąży. Należy zaznaczyć, że badanie to jest jak dotychczas jedynym badaniem, w którym podjęto próbę wyznaczenia dolnej granicy normy objętości tarczycy w grupie kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy. W zależności od przyjętych norm częstość występowania podwyższonego stężenia TSH u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy wynosiła 29% (dla TSH  $>2.5$   $\mu\text{IU/ml}$ ) oraz 4% (dla TSH  $>4.2$   $\mu\text{IU/ml}$ ). Oznacza to, że przy założeniu górnej granicy stężenia TSH w pierwszym trymestrze ciąży wynoszącym 2.5  $\mu\text{IU/ml}$  zgodnie z ostatnimi rekomendacjami PTE, w przypadku planowanej ciąży lub rozpoznania ciąży prawie jedna trzecia badanych kobiet prawdopodobnie wymagałaby wdrożenia leczenia lewotyroksyną.

Jeśli przyjmiemy zgodnie z ostatnimi zaleceniami ATA górną granicę normy stężenia TSH w okolicach 4.0  $\mu\text{IU/ml}$ , około 4% kobiet bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy oraz innych zdefiniowanych przyczyn niedoczynności tarczycy powinna rozpocząć leczenie. Niektóre towarzystwa endokrynologiczne rekomendują wykonywanie kontrolnego badania stężenia TSH u kobiet planujących ciążę lub w ciąży jedynie w przypadku czynników ryzyka (active case finding). Przedstawiona praca wskazuje, że nawet w grupie bez obciążeń (autoimmunizacyjne zapalenie tarczycy, współistnienie innych chorób autoimmunizacyjnych, obciążenia rodzinne w kierunku chorób autoimmunizacyjnych i inne), można rozpoznać przypadki z subkliniczną niedoczynnością tarczycy. Kolejna publikacja miała odpowiedzieć na pytanie czy takim czynnikiem obciążającym może być narażenie na bisfenole.

Ponieważ w literaturze pojawia się coraz więcej doniesień na temat negatywnego wpływu EDC na gruczoł tarczowy u ludzi, w **pracy nr 2** postanowiono poddać analizie relacje pomiędzy narażeniem na BPA i jego 10 analogów (BPS, BPC, BPE, BPF, BPG, BPM, BPP, BPZ, BPFL, BPBP) jako szeroko rozpowszechnionych czynników środowiskowych mogących prowadzić do rozwoju niedoczynności tarczycy. Wykazano istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy objętością tarczycy a stężeniem BPC w moczu u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy. Ponadto udowodniono, że kobiety, u których wykryto w moczu obecność BPC prezentowały istotnie mniejszą objętość tarczycy w porównaniu do kobiet, w których moczu nie wykryto obecności BPC. Kolejnym wnioskiem z badania jest dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem w moczu BPC a stężeniem TSH. U kobiet, u których wykryto w moczu obecność BPC stężenie TSH było istotnie wyższe niż u kobiet, u których nie wykryto BPC w moczu. Nie udowodniono związku pomiędzy narażeniem na BPA ani jego inne analogi poza BPC a objętością i funkcją tarczycy. Najprawdopodobniej istotny wpływ BPC jako jedyne z badanych analogów BPA wynika z wyjątkowej budowy chemicznej BPC, dzięki czemu ten analog najbardziej przypomina T4.

W **pracy nr 3** podsumowano dotychczasową literaturę na temat wpływu BPA i jego analogów na gruczoł tarczowy. Wyniki badań nie są jednoznaczne i zależą od projektu badania (in vitro lub in vivo) oraz badanej grupy (ludzie, zwierzęta, linie komórkowe). W kilku badaniach udowodniono, że jako związki endokrynnie czynne BPA i jego analogi oddziałują z układem hormonalnym, a wpływ na tarczycę odbywa się poprzez różne mechanizmy. Bisfenole zawdzięczają swoją aktywność hormonalną specyficznej budowie chemicznej, która imituje hormony tarczycy. Z dotychczasowego piśmiennictwa wynika, że analogi strukturalne BPA mogą nawet być bardziej szkodliwe dla ludzi niż sam

BPA, a ich aktywność zależy od podstawników w pierścieniach fenolowych oraz od ich stężenia. W związku z faktem, że kontakt z bisfenolami jest nieunikniony, istnieje ogromna potrzeba przeprowadzenia dużych randomizowanych badań na ludziach, by ustalić potencjalny szkodliwy efekt BPA i jego analogów na ludzi, a zwłaszcza kobiety w wieku rozrodczym, kobiety ciężarne oraz dzieci.

## 7. Wnioski

- i. Objętość tarczycy u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia TSH.
- ii. U kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy objętość tarczycy  $<9$  ml („mała tarczyca”) jest istotnym statystycznie czynnikiem predykcyjnym występowania stężenia TSH  $>2.5$   $\mu$ IU/ml.
- iii. Częstość występowania podwyższonego stężenia TSH u kobiet w wieku rozrodczym bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy wynosi 29% (dla TSH  $>2.5$   $\mu$ IU/ml) oraz 4% (dla TSH  $>4.2$   $\mu$ IU/ml). Obniżona objętość tarczycy ( $<9$  ml) dotyczy około 40% młodych kobiet bez autoimmunizacyjnego zapalenia tarczycy.
- iv. Tarczycy o małej objętości występują częściej u kobiet narażonych na działanie BPC. Ekspozycja na BPC wiąże się również z częstszym podwyższeniem stężenia TSH  $>2.5$   $\mu$ IU/ml. Nie stwierdzono związku pomiędzy narażeniem na BPA ani inne jego analogi poza BPC a objętością i funkcją tarczycy.
- v. Wyniki dotychczasowych badań nad związkiem BPA i jego analogów na objętość i funkcję tarczycy są niejednoznaczne. Prawdopodobnie analogi BPA wykazują bardziej szkodliwy efekt na gruczoł tarczowy niż sam BPA.
- vi. Wyniki badań potwierdzają konieczność rutynowej diagnostyki niedoczynności tarczycy u wszystkich kobiet planujących ciążę lub będących w ciąży niezależnie od obecności czynników jednoznacznie wpływających na rozwój zaburzeń czynności tarczycy.

## 8. Piśmiennictwo

1. Lewiński A. Niedoczynność tarczycy. In: Gajewski P, editor. *Interna Szczeklika*. Kraków: Medycyna Praktyczna; 2020. p. 1380-7.
2. Aoki Y, Belin RM, Clickner R, Jeffries R, Phillips L, Mahaffey KR. Serum TSH and total T4 in the United States population and their association with participant characteristics: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES 1999-2002). *Thyroid*. 2007;17(12):1211-23.
3. Gietka-Czernel M. Niedoczynność tarczycy. In: Zgliczyński W, editor. *Endokrynologia*. I. Warszawa 2011. p. 243-55.
4. Sullivan SA. Hypothyroidism in Pregnancy. *Clin Obstet Gynecol*. 2019;62(2):308-19.
5. Toloza FJK, Abedzadeh-Anaraki S, Maraka S. Subclinical hypothyroidism in pregnancy. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2019;26(5):225-31.
6. Alexander EK, Pearce EN, Brent GA, Brown RS, Chen H, Dosiou C, et al. 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum. *Thyroid*. 2017;27(3):315-89.
7. Artini PG, Uccelli A, Papini F, Simi G, Di Berardino OM, Ruggiero M, et al. Infertility and pregnancy loss in euthyroid women with thyroid autoimmunity. *Gynecol Endocrinol*. 2013;29(1):36-41.
8. Lewiński A. Niedoczynność tarczycy. In: Gajewski P, editor. *Interna Szczeklika*. Kraków: Medycyna Praktyczna; 2016. p. 1289-96.
9. Trimboli P, Rossi F, Thorel F, Condorelli E, Laurenti O, Ventura C, et al. One in five subjects with normal thyroid ultrasonography has altered thyroid tests. *Endocr J*. 2012;59(2):137-43.
10. Hubalewska-Dydejczyk A, Lewiński A, Milewicz A, Radowicki S, Poręba R, Karbownik-Lewińska M, et al. [Management of thyroid diseases during pregnancy]. *Endokrynol Pol*. 2011;62(4):362-81.
11. Jansen TA, Korevaar TIM, Mulder TA, White T, Muetzel RL, Peeters RP, et al. Maternal thyroid function during pregnancy and child brain morphology: a time window-specific analysis of a prospective cohort. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2019.
12. Ajmani SN, Aggarwal D, Bhatia P, Sharma M, Sarabhai V, Paul M. Prevalence of overt and subclinical thyroid dysfunction among pregnant women and its effect on maternal and fetal outcome. *J Obstet Gynaecol India*. 2014;64(2):105-10.

13. Negro R, Schwartz A, Gismondi R, Tinelli A, Mangieri T, Stagnaro-Green A. Increased pregnancy loss rate in thyroid antibody negative women with TSH levels between 2.5 and 5.0 in the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(9):E44-8.
14. Andersen SL, Andersen S, Vestergaard P, Olsen J. Maternal Thyroid Function in Early Pregnancy and Child Neurodevelopmental Disorders: A Danish Nationwide Case-Cohort Study. *Thyroid.* 2018;28(4):537-46.
15. Garber JR, Cobin RH, Gharib H, Hennessey JV, Klein I, Mechanick JI, et al. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. *Endocr Pract.* 2012;18(6):988-1028.
16. Lazarus J, Brown RS, Daumerie C, Hubalewska-Dydejczyk A, Negro R, Vaidya B. 2014 European thyroid association guidelines for the management of subclinical hypothyroidism in pregnancy and in children. *Eur Thyroid J.* 2014;3(2):76-94.
17. Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, Azizi F, Mestman J, Negro R, et al. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid.* 2011;21(10):1081-125.
18. Suzuki S, Midorikawa S, Fukushima T, Shimura H, Ohira T, Ohtsuru A, et al. Systematic determination of thyroid volume by ultrasound examination from infancy to adolescence in Japan: the Fukushima Health Management Survey. *Endocr J.* 2015;62(3):261-8.
19. Barrère X, Valeix P, Preziosi P, Bensimon M, Pelletier B, Galan P, et al. Determinants of thyroid volume in healthy French adults participating in the SU.VI.MAX cohort. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2000;52(3):273-8.
20. Yousef M, Sulieman A, Ahmed B, Abdella A, Eltom K. Local reference ranges of thyroid volume in sudanese normal subjects using ultrasound. *J Thyroid Res.* 2011;2011:935141.
21. Şahin E, Elboğa U, Kalender E. Regional reference values of thyroid gland volume in Turkish Adults. *Srp Arh Celok Lek.* 2015;143(3-4):141-5.
22. Tarnoki AD, Tarnoki DL, Speer G, Littvay L, Bata P, Garami Z, et al. Genetic and environmental influence on thyroid gland volume and thickness of thyroid isthmus: a twin study. *Arch Endocrinol Metab.* 2015.
23. Asl JF, Larijani B, Zakerkish M, Rahim F, Shirbandi K, Akbari R. The possible global hazard of cell phone radiation on thyroid cells and hormones: a systematic review of evidences. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019;26(18):18017-31.

24. Rutkowska A, Rachoń D, Milewicz A, Ruchała M, Bolanowski M, Jędrzejuk D, et al. Polish Society of Endocrinology Position statement on endocrine disrupting chemicals (EDCs). *Endokrynol Pol.* 2015;66(3):276-81.
25. La Merrill MA, Vandenberg LN, Smith MT, Goodson W, Browne P, Patisaul HB, et al. Consensus on the key characteristics of endocrine-disrupting chemicals as a basis for hazard identification. *Nat Rev Endocrinol.* 2020;16(1):45-57.
26. Braun JM, Hauser R. Bisphenol A and children's health. *Curr Opin Pediatr.* 2011;23(2):233-9.
27. Geens T, Goeyens L, Kannan K, Neels H, Covaci A. Levels of bisphenol-A in thermal paper receipts from Belgium and estimation of human exposure. *Sci Total Environ.* 2012;435-436:30-3.
28. Fenichel P, Chevalier N, Brucker-Davis F. Bisphenol A: an endocrine and metabolic disruptor. *Ann Endocrinol (Paris).* 2013;74(3):211-20.
29. Carwile JL, Luu HT, Bassett LS, Driscoll DA, Yuan C, Chang JY, et al. Polycarbonate bottle use and urinary bisphenol A concentrations. *Environ Health Perspect.* 2009;117(9):1368-72.
30. Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgarten FJ, Schoenfelder G. Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environ Health Perspect.* 2010;118(8):1055-70.
31. Konduracka E, Krzemieniecki K, Gajos G. Relationship between everyday use cosmetics and female breast cancer. *Pol Arch Med Wewn.* 2014;124(5):264-9.
32. Rutkowska AZ, Szybiak A, Serkies K, Rachoń D. Endocrine disrupting chemicals as potential risk factor for estrogen-dependent cancers. *Pol Arch Med Wewn.* 2016;126(7-8):562-70.
33. Wassenaar PNH, Trasande L, Legler J. Systematic Review and Meta-Analysis of Early-Life Exposure to Bisphenol A and Obesity-Related Outcomes in Rodents. *Environ Health Perspect.* 2017;125(10):106001.
34. Konieczna A, Rachoń D, Owczarek K, Kubica P, Kowalewska A, Kudłak B, et al. Serum bisphenol A concentrations correlate with serum testosterone levels in women with polycystic ovary syndrome. *Reprod Toxicol.* 2018;82:32-7.
35. Demeneix BA. Evidence for Prenatal Exposure to Thyroid Disruptors and Adverse Effects on Brain Development. *Eur Thyroid J.* 2019;8(6):283-92.
36. Korevaar TI, Muetzel R, Medici M, Chaker L, Jaddoe VW, de Rijke YB, et al. Association of maternal thyroid function during early pregnancy with offspring IQ and brain

morphology in childhood: a population-based prospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(1):35-43.

37. Duntas LH. Chemical contamination and the thyroid. *Endocrine.* 2015;48(1):53-64.
38. Lee J, Kim S, Choi K, Ji K. Effects of bisphenol analogs on thyroid endocrine system and possible interaction with 17 $\beta$ -estradiol using GH3 cells. *Toxicol In Vitro.* 2018;53:107-13.
39. Lee S, Kim C, Youn H, Choi K. Thyroid hormone disrupting potentials of bisphenol A and its analogues - in vitro comparison study employing rat pituitary (GH3) and thyroid follicular (FRTL-5) cells. *Toxicol In Vitro.* 2017;40:297-304.
40. Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N, et al. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(11):5185-90.
41. Zoeller RT, Bansal R, Parris C. Bisphenol-A, an environmental contaminant that acts as a thyroid hormone receptor antagonist in vitro, increases serum thyroxine, and alters RC3/neurogranin expression in the developing rat brain. *Endocrinology.* 2005;146(2):607-12.
42. Lee S, Kim C, Shin H, Kho Y, Choi K. Comparison of thyroid hormone disruption potentials by bisphenols A, S, F, and Z in embryo-larval zebrafish. *Chemosphere.* 2019;221:115-23.
43. Chevrier J, Gunier RB, Bradman A, Holland NT, Calafat AM, Eskenazi B, et al. Maternal urinary bisphenol a during pregnancy and maternal and neonatal thyroid function in the CHAMACOS study. *Environ Health Perspect.* 2013;121(1):138-44.
44. Wang N, Zhou Y, Fu C, Wang H, Huang P, Wang B, et al. Influence of Bisphenol A on Thyroid Volume and Structure Independent of Iodine in School Children. *PLoS One.* 2015;10(10):e0141248.
45. Kolatorova L, Vitku J, Hampl R, Adamcova K, Skodova T, Simkova M, et al. Exposure to bisphenols and parabens during pregnancy and relations to steroid changes. *Environ Res.* 2018;163:115-22.
46. Correia-Sá L, Kasper-Sonnenberg M, Schütze A, Pálmke C, Norberto S, Calhau C, et al. Exposure assessment to bisphenol A (BPA) in Portuguese children by human biomonitoring. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2017;24(35):27502-14.
47. Kitamura S, Suzuki T, Sanoh S, Kohta R, Jinno N, Sugihara K, et al. Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicol Sci.* 2005;84(2):249-59.
48. De Groot L, Abalovich M, Alexander EK, Amino N, Barbour L, Cobin RH, et al. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(8):2543-65.



49. Hennessey JV, Garber JR, Woeber KA, Cobin R, Klein I, Committee ATS, et al. AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS AND AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY POSITION STATEMENT ON THYROID DYSFUNCTION CASE FINDING. *Endocr Pract.* 2016;22(2):262-70.

## **9. Opinia Komisji Bioetycznej lub Etycznej**



# Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym

Tel.: 022/ 57 - 20 -303  
Fax: 022/ 57 - 20 -165

ul. Żwirki i Wigury nr 61  
02-091 Warszawa

e-mail: komisja.bioetyczna@wum.edu.pl  
www.komisja-bioetyczna.wum.edu.pl

KB/.....<sup>104</sup>...../2015

Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym  
po zapoznaniu się z wnioskiem /wymienić wnioskodawcę/ - w dniu 05 maja 2015r.  
**Dr n.med. Piotr Miśkiewicz, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych  
i Endokrynologii, ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa,**

**dotyczącym:** wyrażenia opinii w sprawie badania pt.: „ Objętość tarczycy jako czynnik  
rokowniczy rozwoju niedoczynności tarczycy u kobiet w okresie reprodukcyjnym.  
Wyznaczenie dolnej granicy normy objętości tarczycy.”

### wyraża następującą opinię

- stwierdza, że jest ono dopuszczalne i zgodne z zasadami naukowo-etycznymi\*.
- stwierdza, że jest ono niedopuszczalne i niezgodne z zasadami naukowo-etycznymi.\*

### Uwagi Komisji-verte

**Pouczenie-w ciągu 14 dni od otrzymania decyzji wnioskodawcy przysługuje Prawo  
odwołania do Komisji Odwoławczej za pośrednictwem Komisji Bioetycznej przy  
Warszawskim Uniwersytecie Medycznym.**

Komisja działa na podstawie art.29 ustawy z dnia 5.12.1996r. o zawodzie lekarza /Dz.U.nr 28/97 poz.152  
wraz z późn.zm./, zarządzenia MZiOS z dn.11.05.1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i  
finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych /Dz.U.nr 47 poz.480/, Ustawy prawo  
farmaceutyczne z dnia 6 września 2001r. (Dz.U.Nr 126, poz. 1381 z późn. zm.) Zarządzenie nr 56/2007  
z dnia 15 października 2007 r.w sprawie działania Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie  
Medycznym /Regulamin Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym/.

Komisja działa zgodnie z zasadami GCP.

W załączeniu- skład Komisji oraz lista obecności.

### Przewodnicząca Komisji Bioetycznej

Prof. dr hab. n .med. Maria Roszkowska-Blaim

\*niepotrzebne skreślić

## **10. Oświadczenia współautorów**



KATEDRA I KLINIKA CHORÓB WEWNĘTRZNYCH I ENDOKRYNOLOGII

WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

KIEROWNIK: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk

Warszawa, data 09.06.2021

### Oświadczenie o współautorstwie

**Tytuł artykułu:** "Small Thyroid Gland" in reproductive women without autoimmune thyroid disease – ultrasonographic evaluation as a useful screening tool for hypothyroidism.

**Autorzy:** Justyna Milczarek-Banach, Piotr Miśkiewicz

**Dane bibliometryczne:** Journal of Clinical Medicine. 2021 Apr 22;10(9):1828

Oświadczam, że mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji i projekcie badania, ustalaniu metodologii, gromadzeniu i zestawieniu danych, opracowaniu statystycznym danych oraz na przygotowaniu oryginalnego tekstu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu powyższej publikacji szacuję na około 60%.

Podpis współautora (Justyna Milczarek-Banach): Justyna Milczarek-Banach

Ul. Banacha 1A, 02-097 Warszawa

Tel.: (22)599-29-75; 599-26-75

Fax.: (22)599-19-75

e-mail: endosek@wum.edu.pl



**KATEDRA I KLINIKA CHORÓB WEWNĘTRZNYCH I ENDOKRYNOLOGII  
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**

KIEROWNIK: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk

Warszawa, data *09.06.2021*.....

**Oświadczenie o współautorstwie**

**Tytuł artykułu:** "Small Thyroid Gland" in reproductive women without autoimmune thyroid disease – ultrasonographic evaluation as a useful screening tool for hypothyroidism.

**Autorzy:** Justyna Milczarek-Banach, Piotr Miśkiewicz

**Dane bibliometryczne:** Journal of Clinical Medicine. 2021 Apr 22;10(9):1828

Oświadczam, że mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji i projekcie badania, ustalaniu metodologii oraz w przygotowaniu oryginalnego tekstu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu powyższej publikacji szacuję na około 40%.

Podpis współautora (Piotr Miśkiewicz):.....

*Piotr Miśkiewicz*  
Dr hab. n. med. Piotr Miśkiewicz  
Endokrynolog  
Specjalista chorób wewnętrznych  
6716469

Ul. Banacha 1A, 02-097 Warszawa

Tel.: (22)599-29-75; 599-26-75

Fax.: (22)599-19-75

e-mail: endosek@wum.edu.pl



**KATEDRA I KLINIKA CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH I ENDOKRYNOLOGII  
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**

KIEROWNIK: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk

Warszawa, data *09.06.2021*

**Oświadczenie o współautorstwie**

**Tytuł artykułu:** Exposure to bisphenol A analogues and the thyroid function and volume in women of reproductive age – cross-sectional study.

**Autorzy:** Justyna Milczarek-Banach, Dominik Rachoń, Tomasz Bednarczuk, Katarzyna Myśliwiec-Czajka, Andrzej Wasik, Piotr Miśkiewicz

**Dane bibliometryczne:** Frontiers in Endocrinology. 2021 Jan 19;11:587252

Oświadczam, że mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji i projekcie badania, ustalaniu metodologii, gromadzeniu i zestawianiu danych, opracowaniu statystycznym danych oraz na przygotowaniu oryginalnego tekstu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu powyższej publikacji szacuję na około 40%.

Podpis współautora (Justyna Milczarek-Banach): *Justyna Milczarek-Banach*

Ul. Banacha 1A, 02-097 Warszawa

Tel.: (22)599-29-75; 599-26-75

Fax.: (22)599-19-75

e-mail: endosek@wum.edu.pl



KATEDRA I KLINIKA CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH I ENDOKRYNOLOGII  
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

KIEROWNIK: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk

Gdańsk, 31 maja 2021

**Oświadczenie o współautorstwie**

**Tytuł artykułu:** Exposure to bisphenol A analogues and the thyroid function and volume in women of reproductive age – cross-sectional study

**Autorzy:** Justyna Milczarek-Banach, Dominik Rachoń, Tomasz Bednarczuk, Katarzyna Myśliwiec-Czajka, Andrzej Wasik, Piotr Miśkiewicz

**Dane bibliometryczne:** Frontiers in Endocrinology 2021 Jan 19;11:587252

Oświadczam, że mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współudziale w ustalaniu metodologii, ocenie merytorycznej oraz recenzji pracy

Mój udział procentowy w przygotowaniu powyższej publikacji szacuję na około 10%.

Podpis współautora (Dominik Rachoń).

Ul. Banacha 1A, 02-097 Warszawa

Tel.. (22)599-29-75; 599-26-75

Fax.. (22)599-19-75

e-mail: endosek@wum.edu.pl





**KATEDRA I KLINIKA CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH I ENDOKRYNOLOGII  
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**

KIEROWNIK: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk

Warszawa, data ...09.06.2021...

**Oświadczenie o współautorstwie**

**Tytuł artykułu:** Exposure to bisphenol A analogues and the thyroid function and volume in women of reproductive age – cross-sectional study.

**Autorzy:** Justyna Milczarek-Banach, Dominik Rachoń, Tomasz Bednarczuk, Katarzyna Myśliwiec-Czajka, Andrzej Wasik, Piotr Miśkiewicz

**Dane bibliometryczne:** Frontiers in Endocrinology. 2021 Jan 19;11:587252

Oświadczam, że mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji i projekcie badania, ocenie merytorycznej i recenzji pracy.

Mój udział procentowy w przygotowaniu powyższej publikacji szacuję na około 10%.

KIEROWNIK  
Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i  
Endokrynologii

Podpis współautora (Tomasz Bednarczuk): ...Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk

Ul. Banacha 1A, 02-097 Warszawa

Tel.: (22)599-29-75; 599-26-75

Fax.: (22)599-19-75

e-mail: endosek@wum.edu.pl



**KATEDRA I KLINIKA CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH I ENDOKRYNOLOGII  
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**

KIEROWNIK: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk

Warszawa, data ...04.06.2021r...

**Oświadczenie o współautorstwie**

**Tytuł artykułu:** Exposure to bisphenol A analogues and the thyroid function and volume in women of reproductive age – cross-sectional study.

**Autorzy:** Justyna Milczarek-Banach, Dominik Rachoń, Tomasz Bednarczuk, Katarzyna Myśliwiec-Czajka, Andrzej Wasik, Piotr Miśkiewicz

**Dane bibliometryczne:** Frontiers in Endocrinology. 2021 Jan 19;11:587252

Oświadczam, że mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współudziale w ustalaniu metodologii, gromadzeniu i zestawianiu danych oraz recenzji pracy.

Mój udział procentowy w przygotowaniu powyższej publikacji szacuję na około 5%.

Podpis współautora (Katarzyna Myśliwiec-Czajka):...Katarzyna Myśliwiec-Czajka

Ul. Banacha 1A, 02-097 Warszawa

Tel.: (22)599-29-75; 599-26-75

Fax.: (22)599-19-75

e-mail: endosek@wum.edu.pl



**KATEDRA I KLINIKA CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH I ENDOKRYNOLOGII  
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY  
KIEROWNIK: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk**

Gdańsk, data 6.06.2021

**Oświadczenie o współautorstwie**

**Tytuł artykułu:** Exposure to bisphenol A analogues and the thyroid function and volume in women of reproductive age – cross-sectional study.

**Autorzy:** Justyna Milczarek-Banach, Dominik Rachoń, Tomasz Bednarczuk, Katarzyna Myśliwiec-Czajka, Andrzej Wasik, Piotr Miśkiewicz

**Dane bibliometryczne:** Frontiers in Endocrinology. 2021 Jan 19;11:587252

Oświadczam, że mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współudziale w ustalaniu metodologii, wykonaniu oznaczeń laboratoryjnych, ocenie merytorycznej oraz recenzji pracy.

Mój udział procentowy w przygotowaniu powyższej publikacji szacuję na około 15%.

Podpis współautora (Andrzej Wasik):.....

Ul. Banacha 1A, 02-097 Warszawa

Tel.: (22)599-29-75; 599-26-75

Fax.: (22)599-19-75

e-mail: endosek@wum.edu.pl



**KATEDRA I KLINIKA CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH I ENDOKRYNOLOGII  
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**

KIEROWNIK: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk

Warszawa, data *09.06.2021*.....

**Oświadczenie o współautorstwie**

**Tytuł artykułu:** Exposure to bisphenol A analogues and the thyroid function and volume in women of reproductive age – cross-sectional study.

**Autorzy:** Justyna Milczarek-Banach, Dominik Rachoń, Tomasz Bednarczuk, Katarzyna Myśliwiec-Czajka, Andrzej Wasik, Piotr Miśkiewicz

**Dane bibliometryczne:** Frontiers in Endocrinology. 2021 Jan 19;11:587252

Oświadczam, że mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji i projekcie badania, ustalaniu metodologii oraz w przygotowaniu oryginalnego tekstu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu powyższej publikacji szacuję na około 20%.

Podpis współautora (Piotr Miśkiewicz):.....

*Piotr Miśkiewicz*  
Dr hab. n. med. Piotr Miśkiewicz  
Endokrynolog  
Specjalista chorób wewnętrznych  
6716469

Ul. Banacha 1A, 02-097 Warszawa

Tel.: (22)599-29-75; 599-26-75

Fax.: (22)599-19-75

e-mail: endosek@wum.edu.pl



**KATEDRA I KLINIKA CHORÓB WEWNĘTRZNYCH I ENDOKRYNOLOGII  
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**

KIEROWNIK: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk

Warszawa, data *09.06.2021*.....

**Oświadczenie o współautorstwie**

**Tytuł artykułu:** The role of bisphenol A and its analogues as endocrine disruptors influencing the thyroid gland: a short review.

**Autorzy:** Justyna Milczarek-Banach, Piotr Miśkiewicz

**Dane bibliometryczne:** Journal of Medical Science. 2020 Sep 30; 89(3):e441

Oświadczam, że mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, zebraniu piśmiennictwa oraz przygotowaniu oryginalnego tekstu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu powyższej publikacji szacuję na około 90%.

Podpis współautora (Justyna Milczarek-Banach): .....

*Justyna Milczarek-Banach*

Ul. Banacha 1A, 02-097 Warszawa

Tel.: (22)599-29-75; 599-26-75

Fax.: (22)599-19-75

e-mail: endosek@wum.edu.pl



**KATEDRA I KLINIKA CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH I ENDOKRYNOLOGII  
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY**

KIEROWNIK: Prof. dr hab. n. med. Tomasz Bednarczuk

Warszawa, data 09.06.2021.....

**Oświadczenie o współautorstwie**

**Tytuł artykułu:** The role of bisphenol A and its analogues as endocrine disruptors influencing the thyroid gland: a short review.

**Autorzy:** Justyna Milczarek-Banach, Piotr Miśkiewicz

**Dane bibliometryczne:** Journal of Medical Science. 2020 Sep 30; 89(3):e441

Oświadczam, że mój wkład w powstanie powyższej publikacji polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, ocenie merytorycznej i recenzji publikacji.

Mój udział procentowy w przygotowaniu powyższej publikacji szacuję na około 10%.

Podpis współautora (Piotr Miśkiewicz):.....

Dr hab. n. med. Piotr Miśkiewicz  
Endokrynolog  
Specjalista chorób wewnętrznych  
6716469

Ul. Banacha 1A, 02-097 Warszawa

Tel.: (22)599-29-75; 599-26-75

Fax.: (22)599-19-75

e-mail: endosek@wum.edu.pl