

R e c e n z j a

dla Rady Naukowej

Instytutu Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera

dotycząca pracy doktorskiej magister Agnieszki Jankowskiej
**WPLYW NARAŻENIA NA FTALANY W ŻYCIU PŁODOWYM
I PO URODZENIU NA ROZWÓJ NEUROBEHAVIORALNY
DZIECI W WIEKU WCZESNOSZKOLNYM**
napisanej pod kierunkiem prof. dr hab. n. med. Kingi Polańskiej

Często z podziwem, czy nawet z nutą zazdrości patrzę na kraje i zagraniczne ośrodki badawcze prowadzące badania prospektywne w kohortach od życia płodowego do mniej lub lepiej sprecyzowanego punktu końcowego. Utrzymanie takich badań uwarunkowane jest stabilnością źródeł finansowania i zespołów badawczych, a korzyści poznawcze nie do podważenia. Pewnie ze względu na te ograniczenia mamy w Polsce zbyt mało badań kohortowych. Polska kohorta REPRO_PL jest przykładem, że można konsekwentnie realizować badania prospektywne, nawet w niewielkiej próbie. Zespół realizujący wykazuje ponadprzeciętną aktywność publikacyjną, dając też możliwość kształcenia się młodym badaczom. Przedstawiona do oceny praca doktorska wskazuje na wzorcową ścieżkę naukową młodej badaczki, której po zaproszeniu do grupy stworzono możliwość realizacji niezależnego projektu doktorskiego i zdobycia doświadczenia w międzynarodowym zespole.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska magister Agnieszki Jankowskiej stanowi zbiór opublikowanych w języku angielskim i powiązanych ze sobą czterech artykułów naukowych. Taka konwencja stawia recenzenta w komfortowej sytuacji, ponieważ mam świadomość, że wymienione poniżej prace przeszły już na etapie składania do renomowanych czasopism naukowych proces wnikliwej recenzji. Okres od złożenia pracy do jej przyjęcia przeważnie trwał około 2-3 miesięcy, co pozwala przypuszczać, że recenzenci nie mieli zasadniczych wątpliwości, a manuskrypty były jednak poprawiane. Mogę więc ocenić rozprawę przede wszystkim pod kątem jej spójności tematycznej i zgodności z obowiązującymi przepisami dotyczącymi stopni naukowych. Do oceny formalnej i opinii na temat koncepcji cyklu, dodaję tylko niewielkie uwagi odnoszące się do treści artykułów, oceniając też sposób prezentacji koncepcji w obszernym streszczeniu.

Dostałam do oceny oprawioną dysertację obejmującą około 168 stron, na którą składa się streszczenie koncepcji pracy i jej wyników w języku polskim i angielskim, 73 pozycje piśmiennictwa cytowanego w tym streszczeniu, wykaz wszystkich prac naukowych, w których doktorantka była współautorką, podsumowanie jej dorobku publikacyjnego wg analizy bibliometrycznej, kluczowy załącznik z publikacjami wchodzącymi w skład rozprawy doktorskiej, oświadczenie osoby ubiegającej się o stopień doktora, siedemnaście oświadczeń współautorów, trzy oświadczenia promotora, oraz trzy pozytywne opinie Komisji Bioetycznej z lat 2007-2014 dotyczące kolejnych eksperymentów medycznych. Jest to kompletny materiał, który może być podstawą recenzowania rozprawy doktorskiej mającej postać monotematycznego cyklu. Temat pracy jest zgodny z warunkami stawianymi rozprawom doktorskim, to znaczy wiąże się z nowym nierozpoznanym problemem badawczym.

Przedmiotem całej rozprawy jest analiza związku między poziomem ftalanów oznaczanych w moczu a indeksami rozwoju dzieci 7-letnich uzyskanymi na bazie skal SDQ i IDS. Na cykl składają się następujące trzy następując prace oryginalne i jeden przegląd piśmiennictwa:

- Garí M, Koch HM, Pálmke C, Jankowska A, Wesołowska E, Hanke W, Nowak D, Bose-O'Reilly S, Polańska K. Determinants of phthalate exposure and risk assessment in children from Poland. *Environ Int.* 2019 Jun;127:742-753. doi: 10.1016/j.envint.2019.04.011
- Jankowska A, Polańska K, Hanke W, Wesołowska E, Ligocka D, Waszkowska M, Stańczak A, Tartaglione AM, Mirabella F, Chiarotti F, Garí M, Calamandrei G. Prenatal and early postnatal phthalate exposure and child neurodevelopment at age of 7 years - Polish Mother and Child Cohort. *Environ Res.* 2019 Oct;177:108626. doi: 10.1016/j.envres.2019.108626.
- Jankowska A, Polańska K, Koch HM, Pálmke C, Waszkowska M, Stańczak A, Wesołowska E, Hanke W, Bose-O'Reilly S, Calamandrei G, Garí M. Phthalate exposure and neurodevelopmental outcomes in early school age children from Poland. *Environ Res.* 2019 Dec;179(Pt B):108829. doi: 10.1016/j.envres.2019.108829
- Jankowska A, Nazareth L, Kaleta D, Polanska K. Review of the Existing Evidence for Sex-Specific Relationships between Prenatal Phthalate Exposure and Children's Neurodevelopment. *Int J Environ Res Public Health.* 2021 Dec 9;18(24):13013. doi: 10.3390/ijerph182413013.

Trzy pierwsze prace opublikowane zostały w 2019 roku, a ostatnia w 2021 roku. Liczba autorów waha się od czterech do dwunastu, jednak w trzech artykułach mgr Agnieszka Jankowska jest pierwszym autorem, a tylko w pierwszej jest czwarta w dziewięcioosobowym zespole. Znaczna część doktoratów bazujących na cyklu obejmuje tylko trzy prace, niektóre ośrodki dopuszczają nawet dwie lub dwie opublikowane i jedną złożoną do druku. Biorąc pod

uwagę źródło danych, jakim jest projekt REPRO_PL, obecność autorów innych niż doktorantka i promotorka jest jak najbardziej uzasadnione. Też kluczowa dla analiz ocena poziomu inteligencji i rozwoju testem IDS możliwa była w zespole posiadającym dyplomowanych psychologów. Oświadczenia samej doktorantki, promotorki i współautorów stanowią wystarczające potwierdzenie wkładu mgr Agnieszki Jankowskiej przy opracowaniu koncepcji, wykonaniu eksperymentu oraz przy analizie i interpretacji wyników, będących przedmiotem kolejnych publikacji.

Oceniając poziom cyklu, warto zwrócić uwagę, że dwie prace zostały opublikowane w czasopismach mających wg Ministerstwa Edukacji i Nauki 140 punktów, a pozostałe dwie pochodzą z jednego czasopisma z oceną rankingową 100 punktów. Magister Agnieszka Jankowska posiada dorobek publikacyjny 14 prac o łącznym wskaźniku wpływu $IF=79,116$, z czego prace z cyklu mają łączną punktację $IF=22,397$.

Mimo że nie ma formalnego wymogu całkowitej zgodności tematycznej wszystkich składowych, doktorantka opracowała cykl o bardzo logicznej konstrukcji, gdzie poszczególne elementy wzajemnie się uzupełniają. Sformułowała cztery cele badawcze, a każdy z czterech artykułów jest próbą odpowiedzi na problem badawczy powiązany z danym celem. Ostateczne wnioski podane w streszczeniu odnoszące się do cyklu są zwarte i zgodne z tymi celami. Przegląd piśmiennictwa stanowi tło do pozostałych publikacji a fakt, że powstał jako ostatni nie podważa celowości uwzględnienia go w cyklu. W dyskusji pozostałych prac zwracano uwagę na niedostatecznie omówiony czynnik płci. W zamykającym cykl przeglądzie literatury ograniczono się na ekspozycji prenatalnej, a zróżnicowanie ze względu na płeć jest tematem wiodącym. Z kolei, w najwcześniejszym artykule, skoncentrowano się na uwarunkowaniach socjodemograficznych poziomu ftalanów w trzech badanych okresach, bez związku z neurorozwojem badanych dzieci. To też nie jest w sprzeczności w temacie pracy. Uzyskane wnioski mogły stanowić podstawę wyboru zmiennych zakłócających w budowanych później wieloczynnikowych modelach regresji. Drugą i trzecią z podanych wyżej prac uważam za najważniejsze, z naciskiem na drugą jako wyróżniającą, ponieważ bezpośrednio wiąże się z tematem całego cyklu, ujmując prospektywny charakter badań.

Warto podkreślić, że w obu środkowych pracach wykorzystano te same renomowane narzędzia oceny rozwoju dzieci (SDQ i IDS). Tu zabrakło mi w streszczeniu uhonorowania podaniem nazwiska autorów SDQ [43]. Badano zachowanie i rozwój dzieci w tym samym momencie, czyli w wieku około 7 lat. O ile w jednej z nich posłużono się danymi od 139 par (matka – dziecko 2 letnie), badając prospektywnie związek stężenia ftalanów w okresie

prenatalnym i w pierwszych latach życia z poziomem rozwoju u progu nauki szkolnej, o tyle w drugiej pomiar ftalanów i ocena rozwoju były mierzone równocześnie, a próba obejmowała 250 dzieci 7-letnich. Tu mogę mieć małe zastrzeżenie do streszczenia cyklu, gdzie aspekt zróżnicowanego schematu badawczego nie został uwypuklony, a opis odnosi się do faz całego projektu REPRO_PL. Odbiorca streszczenia gubi się w liczebnościach prób i podawanych okresach badań, jak również w liczbie analizowanych metabolitów. Tabela odnosząca się do publikacji (nie celów) wiele by tu wyjaśniła. Nie ma też pewności, czy przeprowadzone badania dostarczają wystarczających dowodów na zależność przyczynowo-skutkową (nawet w części prospektywnej). Osobiście słowo „wpływ” bym usunęła z tytułu rozprawy, pisząc tylko o narażeniu. W nawiązaniu do tych wątpliwości, za bardzo wartościowe fragmenty artykułów uważam wszelkie próby opisanie na podstawie literatury mechanizmów biologicznych związanych z niekorzystnym wpływem narażenia na ftalany na neurorozwój, z oceną, że wnioski są nadal niejednoznaczne. Doktorantka i jej współautorzy podkreślają, że nie jest w pełni zrozumiałe, czy zmiany te występują jako bezpośredni efekt neurotoksyczny ftalanów, czy też efekt pośredni poprzez zaburzenie innych szlaków neuroprzekaźnikowych lub metabolicznych. Trudno mi jest też ocenić, czy jednorazowy pomiar w każdym momencie badań jest precyzyjną miarą narażenia i w jakim stopniu to rzutuje na wnioskowanie. Informacji na temat nie ma w dyskusjach, ale pojawiają się obecnie opracowania na temat zróżnicowanie między- i wewnątrzosobniczego przy pomiarach powtarzanych w ciągu kolejnych dni (Mok S et al. Environ Res. 2022 Jun;209:112885. doi: 10.1016/j.envres.2022.112885.). W jednym z artykułów cyklu postulowano dalsze badania prospektywne z większą liczbą prób i wieloma punktami czasowymi oceny, aby ustalić, które okresy narażenia na ftalany są najbardziej krytyczne dla wyników neurorozwojowych dzieci. Być może do tego powinny dojść standardy biomonitoringu, podobnie jak ma to miejsce w badaniach żywieniowych.

Niektóre wątpliwości powstałe w trakcie lektury streszczenia, zostały rozwiane po wnikliwym zapoznaniu się z dyskusją wyników poszczególnych artykułów. W trzech artykułach dyskusja jest wyróżnioną częścią, a w jednym połączono wyniki i ich omówienie. Na przykład, w pracy trzeciej i biorąc pod uwagę temat pracy, warto byłoby włączyć potrójny pomiar stężenia ftalanów (matka, dziecko 2 i 7 lat). Autorzy tłumaczą, że oprócz faktu zmniejszenia próby, w każdym okresie analizowano różne metabolity ftalanów (11 dla oceny prenatalnej i wczesnopostnatalnej vs. 21 metabolitów ftalanów wśród dzieci w wieku wczesnoszkolnym). Wielokrotnie wspomniano, że stężenia ftalanów u dzieci 7-letnich były wyższe niż stężenia mierzone u tych samych dzieci w wieku 2 lat, a także u ich matek w czasie

cięży, a ponadto wyniki 7-latków z Polski gorzej przedstawiały się w porównaniach międzynarodowych. Ponadto, z wyjątkiem MEP i MBzP (matka dziecko w wieku 7 lat), nie stwierdzono istotnych korelacji między metabolitami ftalanów oznaczanymi w różnych okresach. Postulat, że mogą istnieć różne profile narażenia na ftalany w okresie rozwoju jest ważnym zidentyfikowanym kierunkiem dalszych badań. Wydaje się więc, że praca trzecia bazująca na badaniach z okresu wczesnoszkolnego jest ważnym elementem cyklu, z problemem badawczym dotąd nie podjętym w innych publikacjach zespołu REPRO_PL.

Trudno mi się odnieść do strony (bio)chemicznej opublikowanych prac, choć jest to temat wciągający i trafiający do mnie jako konsumenta. Z perspektywy własnego wykształcenia i doświadczenia w komitetach redakcyjnych podobnych czasopism, pragnę zwrócić uwagę na bardzo wysoki poziom analiz w trzech pracach oryginalnych. Rzetelność i dokładność przebija tu w każdym punkcie, i w opisie metod i w prezentacji wyników. Materiał udostępniony w oprawionej rozprawie nie ujmuje pełnej wartości tych artykułów. Wszystkie prace uzupełnione zostały dodatkowymi materiałami elektronicznymi (suplementami), do których dotarłam przez strony internetowe czasopism. Prezentacja wyników jest trudna ze względu na liczbę analizowanych metabolitów i złożoność testów SDQ i IDS. Przyjęto konwencję wzorcowej prezentacji graficznej na serii wykresów, a podstawową metodą analiz jest wieloczynnikowa regresja liniowa. W przypadku SDQ uzupełnieniem jest regresja logistyczna, w celu oceny ryzyka wyników poza normą. W odpowiednich tabelach oznaczono wyniki statystycznie istotne, to znaczy parametry funkcji regresji, przedziały ufności i istotność parametru (lub odpowiednie dla OR). W przypisach do tabel podano, ze względu na jakie czynniki korygowano analizy. Tylko w niewielu przypadkach uzyskano wynik istotny, świadczący o związku statystycznym między stężeniem ftalanów, a ogólnymi i cząstkowymi wynikami SDQ i IDS. Na przykład wyniki koncentrujące się na rozwoju poznawczym i psychomotorycznym dziecka za pomocą skali IDS nie były w pełni rozstrzygające. Stwierdzono negatywny wpływ niektórych metabolitów ftalanów (MEP, MnBP) w okresie wczesnodziecięcym oraz pozytywny wpływ prenatalnego oxo-MEHP na inteligencję płynną i poznanie. Nie mogłam znaleźć w dyskusji interpretacji wpływu pozytywnego. W innym artykule jest mowa o związku negatywnym z inteligencją dzieci (metabolity Σ DnBP i MMP) i z umiejętnościami matematycznymi (metabolity Σ DnBP, MMP i MEP), ale tu pomiar był w wieku 2 lat. Odnośnie SDQ ważnym wynikiem jest uzyskanie istotnego związku z pogorszeniem relacji rówieśniczych. Być może ze względu na niewielką liczbę istotnych

zależności, ogólne wnioskowanie o definitywnie wykazanym związku/wpływie powinno być ostrożniejsze.

Jak wspomniałam, przegląd piśmiennictwa jest ważnym uzupełnieniem cyklu. Oprócz zwrócenia uwagi na różnice związane z płcią, doktorantka i jej współautorzy prezentują wyniki badań z wykorzystaniem szeregu innych niż SDQ i IDS narzędzi oceny rozwoju poznawczego, psychomotorycznego, behawioralnego i emocjonalnego dzieci. Omówiono dokładnie 17 prac (dane o 11 kohortach) z 7542 wstępnie wyłonionych. Nie wiem, dlaczego taki przegląd nie został jednoznacznie nazwany systematycznym, mimo odwołania do metodologii PRISMA. Klasyfikacja przeglądów jest obecnie ważnym czynnikiem różnicującym. Ale znów jakość prezentacji wyników w tekście głównym i aneksach elektronicznych jest wyróżniająca.

Prezentowany cykl stanowiący rozprawę doktorską ma ważne odniesienie do praktyki zdrowia publicznego. Wyniki wskazują, że konieczne są dalsze działania obejmujące ustawodawstwo, działania edukacyjne i interwencyjne w celu ochrony populacji szczególnie narażonej na konsekwencje narażenia na ftalany, takiej jak w Polsce. Tutaj wydaje się, że warto wypracować wspólny język, tłumacząc analizowane związki chemiczne na język konsumenta i wskazując na konkretne źródła zagrożenia. Jako laik nie wiem, czy wyniki statystycznie istotne odnoszą się do konkretnych produktów lub grup produktów, których używania można zakazać lub ograniczyć (suplementy diety, produkty medyczne, kosmetyki, detergenty, kleje, produkty wyposażenia).

Moja końcowa ocena rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Jankowskiej jest bardzo pozytywna. Sam cykl i ogólny dorobek znacznie wykracza ponad wymagania stawiane doktorantom. Uważam, że doktorantka ma idealne predyspozycje do pracy naukowej i jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej p.t. WPLYW NARAŻENIA NA FTALANY W ŻYCIU PŁODOWYM I PO URODZENIU NA ROZWÓJ NEUROBEHAVIORALNY DZIECI W WIEKU WCZESNOSZKOLNYM.

Stwierdzam więc, że rozprawa doktorska mgr Agnieszki Jankowskiej spełnia w pełni wymogi stawiane rozprawom doktorskim w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789). Jednocześnie wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi o dopuszczenie mgr Agnieszki Jankowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Joanna Marzec