



UNIwersytet Medyczny IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Katedra i Klinika Neonatologii

Kierownik; dr hab.med.Barbara Królak-Olejek, prof.nadzw.

Wasze pismo z dnia:

Wasz znak:

Nasz znak:

Data

WL-30/7/19 Wrocław 20.05.2019

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Olgi Barbarskiej

pt. „Optymalizacja składu mleka kobiecego przeznaczonego dla noworodka przedwcześnie urodzonego”.

Nutrigenomika jest stosunkowo nowym działem nauki zajmującym się badaniem wpływu składników żywności na regulację ekspresji genów, które mogą warunkować dobry stan zdrowia człowieka nawet do późnej starości. Jednym z jej celów jest indywidualizacja diety zmniejszającej ryzyko wystąpienia choroby. Prawidłowe żywienie już w okresie prenatalnym ma istotne znaczenie dla prawidłowego wzrastania ale również rozwoju człowieka i profilaktyki schorzeń cywilizacyjnych w przyszłości. WHO, Sekcja Karmienia Piersią AAP i inne naukowe towarzystwa żywieniowe zalecają, aby wszystkie noworodki były karmione wyłącznie piersią, a urodzone przedwcześnie otrzymywały mleko własnej matki (HM) i/lub mleko kobiece z banku, zamiast mieszanki, jeśli matka nie jest w stanie zapewnić zapotrzebowanie dziecka. Mleko kobiece/karmienie piersią poprawia wyniki żywieniowe, immunologiczne i rozwojowe i jest związane z redukcją powikłań występujących u noworodków z ekstremalnie i bardzo małą urodzeniową masą ciała, takich jak martwicze zapalenie jelit, retinopatia wcześniacza i dysplazja oskrzelowo-płucna. Biorąc pod uwagę wyjątkowe zalety mleka kobiecego, stanowi ono pierwszy wybór w żywieniu niemowląt przedwcześnie urodzonych. Jednakże zawartość białka, minerałów i energii w kolejnych dobach laktacji jest zbyt mała dla zaspokojenia potrzeby żywieniowych najmniejszych wcześniaków, zatem konieczne jest wzmocnienie mleka. Wzmocnienie wynika w dużej mierze z badań porównujących "wewnątrzmaciczne spożywanie składników odżywczych i wzrost wewnątrzmaciczny" ze wzrostem pourodzeniowym. Celowane wzmocnienie mleka

(target fortification) polegające na wstępnej analizie makroskładników mleka, uzupełnianiu białka i tłuszczu na podstawie uzyskanych danych. Regulowane wzmocnienie mleka (adjustable fortification) polega na stosowaniu suplementu białkowego w sposób zindywidualizowany, w oparciu o odpowiedź metaboliczną noworodka.

Wybór tematu rozprawy doktorskiej mgr Olgi Barbarskiej uważam za zasadny i wychodzący na przeciw aktualnym zaleceniom dotyczącym żywienia noworodków, wzrastającej liczby nowych Banków Mleka Kobiecego, a przede wszystkim konieczności właściwego żywienia zwłaszcza noworodków urodzonych przedwcześnie.

Na rozprawę doktorską składa się cykl czterech prac - 1 pogładowej i 3 oryginalnych opublikowanych w języku polskim i angielskim w recenzowanych czasopismach naukowych. W dwóch publikacjach mgr O.Barbarska jest pierwszym autorem, w pozostałych - drugim i trzecim. Udział Doktorantki w przygotowaniu wszystkich publikacji został potwierdzony stosownymi oświadczeniami współautorów, które umieszczono po każdej z opublikowanych prac.

Rozprawa doktorska ma układ typowy, na 32 stronach maszynopisu mgr Olga Barbarska zawarła wykaz publikacji, streszczenie w języku polskim i angielskim, wykaz skrótów i prezentację problemu badawczego w postaci wprowadzenia, celu pracy, materiału i metod, omówienia wyników, wniosków, piśmiennictwa, a na kolejnych - kopii publikacji stanowiących pracę doktorską oraz oświadczeń współautorów. We wprowadzeniu w sposób szczegółowy, a jednocześnie zwarty przedstawiła najistotniejsze dane związane z nutrigenomiką w zdrowym starzeniu. Doktorantka zwraca szczególną uwagę na indywidualizację żywienia już od najwcześniejszych etapów życia człowieka. Omawia korzyści wynikające ze stosowania mleka kobiecego, uważanego za „złoty standard” w żywieniu noworodków i niemowląt, nawiązuje do szczególnej jego roli w żywieniu noworodków urodzonych przedwcześnie. Podkreśla zmienność mleka wynikającą między innymi z okresu laktacji, czasu karmienia i zwraca uwagę na konieczność analiz co najmniej makroskładników - co w Polsce ma miejsce jedynie w Bankach Mleka Kobiecego,

Cel pracy zarówno główny, jak i szczegółowe, są spójne z tematem zasadniczym jak również z załączonymi publikacjami. Głównym - była weryfikacja i opracowanie metod optymalizacji składu mleka przeznaczonego dla noworodków urodzonych przedwcześnie. Doktorantka wyodrębniła 4 cele szczegółowe, w tym ocenę składu mleka kobiecego w odniesieniu do zapotrzebowania żywieniowego wcześniaków, ocenę możliwości wzmocnienia celowanego mleka, analizę czynników wpływających na skład mleka dawczyń oraz porównanie standardowej pasteryzacji metodą Holder z metodą przy użyciu wysokich ciśnień na wybrane bioaktywne składniki mleka kobiecego.

Badania przeprowadzono w latach 2015-17. Pacjentów i próbki mleka pozyskiwano z Regionalnego Banku Mleka w Szpitalu Specjalistycznym im. Św. Rodziny w Warszawie. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym nr AKBE/59/15.

Materiał i zastosowane metody badań zostały bardzo szczegółowo opisane w publikacjach, a także powierzchownie/ogólnie w prezentacji problemu badawczego. Rozprawa doktorska składa się z 4 publikacji, z których 3 prace oryginalne dotyczą kolejno weryfikacji stosowanych i zaproponowanych przez współautorów i Doktorantkę, procedur analizy składu mleka kobiecego. Próbkę mleka pozyskano od 70 kobiet, które urodziły przedwcześnie. Dokonano 3-krotnego pomiaru makroskładników mleka za pomocą analizatora MIRIS. W kolejnej pracy poddano analizie dane uzyskane z Banku Mleka Kobiecego, dotyczące 45 dawczyń oraz z dokumentacji medycznej szpitala - 154 biorców. Makroskładniki mleka i kaloryczność określano na podstawie analiz przeprowadzonych dla każdej partii mleka, wyliczając średnią ważoną dla każdej dawczyni. W ostatniej publikacji przedstawiono część danych pozyskanych w ramach projektu „Laktotechnologia jako odpowiedź na specjalne potrzeby żywieniowe dzieci urodzonych przedwcześnie”, finansowanego z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju, realizowanego przez konsorcjum - Fundacja Bank Mleka Kobiecego, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawski Uniwersytet Medyczny oraz Instytut Wysokich Ciśnień PAN. W publikacji przedstawiono i porównano wpływ standardowej pasteryzacji stosowanej w bankach mleka z 4 wariantami utrwalania mleka metodą wysokich ciśnień na zawartość wybranych składników bioaktywnych, które porównywano ze świeżym mlekiem kobiecym, niepoddanym żadnym procesom. Analizy dotyczyły leptyny, adiponektyny, insuliny, HGF (czynnika wzrostu hepatocytów), laktoferyny, i IgG i wykonywane były przy pomocy metody ELISA, stosując testy komercyjne. Nie omówiono kryteriów włączenia i wyłączenia z badania. Podobnie jak nie opisano metod analitycznych i statystycznych. Nie opisano również autorskiej metody dobowej zbiórki mleka, bardzo trudnej dla matek karmiących, ale dającej możliwość uzyskania danych dotyczących mleka pozyskanego z całej doby, co przy zmienności składu wynikającego również z pory dnia i nocy ma szczególne znaczenie. Powyższe dane znajdują się tylko w załączonych publikacjach.

Uzyskane wyniki zostały zaprezentowane na 5 stronach „omówienia wyników” i szczegółowo w opublikowanych pracach.

Wątpliwość budzi informacja, że w Polsce banki mleka funkcjonują na zasadzie centralnych laboratoriów. Warto omówić istniejące w Polsce banki mleka, zatrudniony personel i możliwości wykonywania badań, czy personel wykonujący analizy mleka to zawsze technik i diagnosta

posiadający uprawnienia do weryfikacji wyników badań laboratoryjnych, w ilu bankach mleka zatrudniony jest taki personel?

W publikacji „Zastosowanie analizatora mleka kobiecego w ocenie wartości odżywczej pokarmu przeznaczonego dla noworodków urodzonych przedwcześnie” przedstawiono propozycję analizy składu mleka w dobowej zbiórce uzyskanej od matki karmiącej. W podsumowaniu napisano, że metody zostały zweryfikowane klinicznie i mogą zostać wdrożone w Oddziałach Neonatologicznych. Analizatory makroskładników mleka są bardzo drogie, w ilu oddziałach neonatologicznych w Polsce są dostępne? Zaproponowana autorska metoda zbiórki mleka jest bardzo czasochłonna i nie zawsze możliwa do zastosowania. Konieczność pobierania mleka nie mniej niż 5 razy w ciągu doby, także w nocy, przed i po zakończeniu karmienia w objętości 1-2 ml. Zbiórka mleka prowadzona była w szpitalu na zlecenie lekarza, wszelkie informacje i pomoc matka uzyskiwała od personelu medycznego. Czy tego typu zbiórkę wiarygodnie w dużych grupach matek można wykonać w każdym okresie laktacji? Jakie znaczenie mają analizy dobowej zbiórki, jeżeli wzmacnianie mleka odbywa się w oddziałach neonatologicznych *ex tempore*? Zgodnie z obowiązującymi zaleceniami każda porcja mleka jest wzmacniana przed podaniem dziecku, nie przechowujemy mleka wzmacnianego, nie wzmacniamy mleka własnej matki ze zbiórki dobowej, ale z każdej dostarczonej porcji.

W publikacji „Characteristics of regional human milk bank in Poland - donors, recipient and nutritional value of human milk” podano wartości minimalne i maksymalne makroskładników mleka bankowanego, uzyskano bardzo zróżnicowane wartości, wynikające zarówno ze zróżnicowanej grupy dawczyń, okresu laktacji jak również objętości mleka. Czy przeprowadzono analizy zależne od objętości przekazywanego mleka przez dawczynię, czy skorelowane stężenia z wiekiem ciążowym w którym nastąpił poród?

Zgodnie z obowiązującymi zaleceniami mleko bankowane otrzymywały głównie noworodki urodzone przedwcześnie (91,5% biorców), suplementacja trwała średnio 4+/-2 dni, jednak objętości podane były stosunkowo duże bo średnio 282+/- 309 ml mleka, czy w tym czasie dzieci otrzymywały również siarę?

Szczególnie interesująca jest ostatnia publikacja „New achievements in high-pressure processing to preserve human milk bioactivity”. Zaprezentowana została nowa metoda utrwalania mleka, która w przeciwieństwie do powszechnie stosowanej pasteryzacji nie obniża tak znacznie wartości biologicznej i immunologicznej mleka kobiecego. Porównano różne warianty metody i stężenia leptyny, adiponektyny, insuliny, czynnika wzrostu hepatocytów, laktoferyny i IgG. W podsumowaniu podkreślono, że „Optymalizacja składu mleka kobiecego przeznaczonego dla noworodka przedwcześnie urodzonego obejmuje wiele aspektów związanych zarówno z karmieniem mlekiem biologicznej matki jak i pokarmem z banku mleka kobiecego. Może

obejmować zindywidualizowane wzmocnienie mleka biologicznej matki na podstawie wyników analizy składu mleka (wzmocnienie celowane), a w przypadku żywienia mlekiem z BMK rekrutacje dawczyń o pożądanym profilu oraz zastosowanie w bankach nowoczesnej metody utrwalania przy pomocy wysokich ciśnień.”

Natomiast wnioski zaprezentowane w opisowej części rozprawy są zbyt obszerne i niejednoznaczne, wymagają również korekty stylistycznej.

1. Mleko biologicznej matki zawiera zazwyczaj większą ilość białka niż mleko z banku mleka, jednak niezależnie od źródła skład pokarmu jest silnie zmienny. Podejmując decyzję dotyczącą stosowania wmacniaczy należy uwzględnić jej zmienność. Korzystniej byłoby napisać: Zawartość makroskładników w mleku własnej matki jest znacznie większa niż w mleku pasteryzowanym z banku mleka, zatem szczególnie istotne jest stosowanie wmacniaczy dla wcześniaka.
2. Wzmocnienie celowane na podstawie wyników analizy składu mleka kobiecego może być z powodzeniem wdrożone w oddziałach neonatologicznych w Polsce. Z czego wynika ten wniosek? W ilu oddziałach neonatologicznych istnieje możliwość analizy makroskładników mleka, co stanowiłoby podstawę celowanego wzmocnienia, może jednak zgodnie z rekomendacjami EMBA należałoby również polecać wzmocnienie mleka regulowane, bardziej dostępne. Ta metoda polega na zapewnieniu zmiennego spożycia białka w oparciu o odpowiedź metaboliczną każdego noworodka (ocena we krwi dziecka azotu pozabiałkowego - BUN).
3. Profil zarejestrowanych dawczyń ma istotny wpływ na skład pokarmu z banku mleka. Rekrutacja matek noworodków przedwcześnie urodzonych jako dawczyń oraz rozpoczynanie współpracy we wczesnym etapie laktacji, zaraz po jej stabilizacji, może podnieść wartość odżywczą mleka zgromadzonego w banku. Może lepiej byłoby napisać, że jeżeli z banku pozyskiwane jest mleko dla noworodków urodzonych przedwcześnie to korzystniej by dawczyniami były kobiety, które urodziły przedwcześnie, ze względu na zawartość makroskładników, głównie białka i tłuszczów.
4. Utrwalanie metodą wysokich ciśnień pozwala na zachowanie bioaktywnych czynników mleka kobiecego w większym stopniu niż powszechnie stosowana pasteryzacja metodą Holder. Wdrożenie tej metody w bankach mleka kobiecego pozwoli na dalszą optymalizację składu pokarmu przeznaczonego dla noworodka przedwcześnie urodzonego. Z wniosku ostatniego wynika, że metoda wysokich ciśnień może być stosowana w bankach, czy jest na tyle prosta, że nie będzie wymagała zatrudnienia profesjonalistów do jej przeprowadzenia i będzie możliwa do stosowania w mikro wymiarze, w bankach czasami pasteryzowanych jest tylko kilka litrów mleka tygodniowo.

W omówieniu wyników pojawiło się kilka błędów stylistycznych i literowych, min. str. 23 „...znaczenie wybranych składników bioaktywnych na zdrowie człowieka..”, „Analizy są wykonywane ... w niewielkim zakresie na cele wzmacniania mleka...”

Piśmiennictwo dołączone do omówienia cyklu publikacji jest w większości anglojęzyczne i pochodzi z lat 2010-2019, Jednakże w żadnej pozycji nie zostały umieszczone skróty tytułów czasopism zgodne z listą skrótów Index Medicus <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>; podane zostały całe nazwy czasopism zarówno małą jak i dużą literą. Cytując rozdział z podręcznika/monografii - poz.31. nie podano miejsca wydania, nazwy wydawcy, ani roku wydania.

Cytując najnowsze publikacje, bo umieszczono również te, które nie mogły być cytowane w opublikowanym cyklu prac, w omówieniu wyników nie uwzględniono szczególnie istotnych klinicznie prac Meier P, Patel A, Esquerra-Zwiers A. Donor Human Milk Update: Evidence, Mechanisms, and Priorities for Research and Practice. J Pediatr. 2017 Jan;180:15-21. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.09.027. Epub 2016 Oct 20. i Geddes D, Perrella S. Breastfeeding and Human Lactation. Nutrients. 2019 Apr 9;11(4). pii: E802. doi: 10.3390/nu11040802

Uzyskane wyniki mają znaczenie nie tylko poznawcze, przede wszystkim praktyczne. Wszystkie prace zostały poddane ocenie przez niezależnych recenzentów w procesie publikacji i uzyskały pozytywne recenzje, dlatego ich wartość merytoryczna nie podlega dyskusji i dodatkowej ocenie.

Rozprawa doktorska mgr Olgi Barbarskiej to oryginalne opracowanie naukowe, aktualne tematycznie i dostarczające nowych dla wiedzy klinicznej danych, które uzasadniają konieczność kontynuacji badań w tym zakresie. Drobne uwagi krytyczne i liczne pytania nie mają wpływu na ocenę przedstawionej mi do recenzji pracy. Doktorantka w pełni odpowiedziała na zagadnienia postawione w celu pracy i wykazała się wiedzą teoretyczną w temacie badania oraz umiejętnością prowadzenia i realizacji pracy naukowej.

Rozprawa doktorska mgr Olgi Barbarskiej, pt. „Optymalizacja składu mleka kobiecego przeznaczonego dla noworodka przedwcześnie urodzonego” odpowiada merytorycznym i formalnym wymogom stawianym na stopień doktora nauk o zdrowiu oraz spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami).

Mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Wydziału Nauki o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wnioski o dopuszczenie mgr Olgi Barbarskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Dr hab.n.med. Barbara Królak-Olejnik, prof.nadzw.

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA KLINIKI NEONATOLOGII
Kierownik

dr hab. Barbara Królak-Olejnik prof. nadzw.