UNIWERSYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Katedra i Klinika Neonatologii

Kierownik; prof. dr hab. med. Barbara Królak-Olejnik

Wasze pismo z dnia:	Wasz znak:	Nasz znak:	Data
		WL-30/2 /20	Wrocław 29.01.2021

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Ewy Kamińskiej-El-Hassan , pt.: „ Ocena pozażywieniowych możliwości wykorzystania mleka kobiecego"

Mleko kobiece jest uważane za żywność funkcjonalną, ponieważ poza odżywianiem stanowi istotny element ochrony immunologicznej dla niedojrzałego organizmu dziecka, wspomaga jego funkcje poprzez bioaktywne składniki, w tym min. enzymy, hormony, czynniki wzrostu, a także elementy komórkowe. Karmienie piersią jest optymalnym sposobem żywienia noworodków i niemowląt. Mleko matki jest bowiem pokarmem pierwszego wyboru dla dzieci zdrowych i chorych, urodzonych o czasie i przed terminem. W terapii żywieniowej noworodków urodzonych przedwcześnie poprawia nie tylko wyniki żywieniowe, ale również immunologiczne i rozwojowe tych pacjentów. Zmniejsza ryzyko częstych powikłań występujących u noworodków VLBW, takich jak sepsa, dysplazja oskrzelowo-płucna (BPD), retinopatia wcześniacza (ROP) czy martwicze zapalenie jelit (NEC). W pełni udokumentowany jest również fakt korzyści zdrowotnych wynikających z karmienia naturalnego dla matki i dziecka. Niemowlęta karmione mlekiem kobiecym rzadziej chorują na zakażenia układu oddechowego i moczowego oraz bakteryjne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, w późniejszym okresie życia są chronione przed nadwagą, otyłością i cukrzycą, nadciśnieniem, chorobami sercowo - naczyniowymi, a także chorobami autoimmunologicznymi i astmą.

W wielu krajach świata, głównie Turcji, Iranie, Egipcie, Indiach, opisano różne pozażywieniowe zastosowania mleka kobiecego. Jednym z częściej prezentowanych, bez objawów niepożądanych ani efektów ubocznych było zastosowanie mleka w pielęgnacji pępka u noworodków. Zainteresowanie, zwłaszcza osób stosujących naturalne formy żywienia i wybierające niefarmakologiczne metody terapeutyczne, wydaje się być stosunkowo duże. Istotna wydaje się ocena wiedzy kobiet na ten temat w Polsce i analiza oparta na dokładnie opisanej procedurze i jednorodnej grupie pacjentów stosujących mleko w formie nie tylko

ul. Borowska 213 50-556 Wrocław
T: +48 71 733 15 00 F: +48 71 733 15 09 WL-30@umed.wroc.pl www..um.wroc.pl

żywieniowej. Szczególnie ważny jest fakt obecności bakterii w mleku kobiecym, indywidualnie zmienny i ewentualny ich wpływ na proces terapeutyczny w którym zostało zastosowane.

Podjęty przez doktorantkę temat dotyczący pozażywieniowego zastosowania mleka kobiecego, uważam za bardzo aktualny i szczególnie istotny zwłaszcza w aspekcie powrotu do natury i wiedzy zdobywanej głównie z internetu (fb, blog, google), a także opartych jedynie na przekazach metodach niekonwencjonalnych terapii.

Przedstawiona do recenzji praca w wersji elektronicznej i papierowej liczy 149 stron wraz z tabelami, rycinami spełniająca od strony redakcyjnej i formalnej wymogi obowiązujące dla tego typu monografii. Rozprawa składa się z 6 głównych rozdziałów - wstępu, założeń i celów pracy, materiału i metod, wyników badań, dyskusji i wniosków, streszczenia w języku polskim i angielskim. Piśmiennictwo zostało właściwie dobrane, w ilości 170 pozycji, zarówno anglojęzyczne, jak i polskie, w większości opublikowane po 2000r. W pracy umieszczono 2 ilustracje, 32 tabele i 9 rycin. Dołączono w formie załączników - kwestionariusz ankiety, informację dla pacjenta - pielęgnacja kikuta pępowinowego z wykorzystaniem mleka matki, zgodę na udział w badaniu, zgodę na pobranie próbki mleka do badań, kwestionariusz pielęgnacji kikuta pępowinowego, zgodę Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, a także dorobek naukowy doktorantki. Korzystniej jednak byłoby umieścić jako pierwszy załącznik zgodę Komisji Bioetycznej, a informację dla pacjenta połączyć z kwestionariuszem pielęgnacji pępka. Utrudnia przegląd i czytanie pracy brak spisu treści w części początkowej - znajduje się po dorobku naukowym i przed spisem ilustracji, tabel i rycin.

Wstęp doktorantka podzieliła na kilka podrozdziałów, w których przedstawiła historię pozażywieniowego zastosowania mleka kobiecego, wybrane bioaktywne składniki mleka i ich znaczenie nie tylko żywieniowe. Dokonała także przeglądu literatury światowej dotyczącej pozażywieniowego zastosowania mleka w leczeniu schorzeń oczu, skóry oraz pępka. Bardzo dokładnie przedstawiła także powikłania związane z przedłużoną mumifikacją i nieoddzielaniem się kikuta pępowiny, zwracając uwagę na aktualnie obowiązujące zalecenia zarówno WHO, jak również polskie dotyczące pielęgnacji. Bardzo ciekawym aczkolwiek nadal kontrowersyjnym jest temat odwrotu społeczeństwa od tradycyjnych metod leczenia i społeczno-ekologiczny model zdrowia. Wzrastające zainteresowanie alternatywnymi metodami pielęgnacji i stosowanymi naturalnymi sposobami postępowania mogą stanowić bazę interesujących naukowych badań klinicznych.
Celem przedstawionej do oceny pracy doktorskiej była analiza pozażywieniowych możliwości wykorzystania mleka kobiecego, w tym :

1. Ocena postaw kobiet ciężarnych wobec możliwości zastosowania mleka kobiecego w pielęgnacji kikuta pępowinowego.
2. Ocena bezpieczeństwa i skuteczności stosowania mleka kobiecego w pielęgnacji kikuta pępowinowego
3. Ocena składu mleka kobiecego pobranego od kobiet stosujących własne mleko w pielęgnacji pępka, w trzeciej dobie po porodzie, uwzględniająca zawartość składników odżywczych, IL-1, Il-6 oraz erytropoetyny.
4. Analiza pozażywieniowych możliwości wykorzystania mleka, w tym pozyskiwania, izolacji, hodowli in vitro komórek progenitorowych i macierzystych pochodzących z mleka kobiecego.

Doktorantka wydzieliła 3 etapy badania. W I etapie przeprowadziła badanie ankietowe wśród kobiet ciężarnych z dwóch warszawskich szkół rodzenia w okresie od stycznia 2018 do marca 2019r. W badaniu wzięło udział 628 kobiet, natomiast analizie poddano 556 ankiet, wykluczając ankiety niekompletne. Ankiety były własnego autorstwa, nie opisano jednak czy zostały zwalidowane. Jakiej użyto metody? W etapie II przeprowadzono prospektywne badanie obserwacyjne w Oddziale Klinicznym Położnictwa i Perinatologii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego WUM, w grupie 155 zdrowych noworodków urodzonych o czasie. W kryteriach włączenia napisano, że badaną grupę stanowiły noworodki urodzone po 36 tygodniu ciąży, kryterium wykluczenia były urodzone przed 36 tygodniem, natomiast badaniami objęto dzieci między 37 a 41 tygodniem ciąży. Warto zgodnie z obowiązującymi kryteriami wyłączyć dzieci pochodzące z porodu przedwczesnego, a włączyć do badania urodzone między 37 0/7 a 41 6/7 tygodniem ciąży. Kryterium wyłączenia były również zaburzenia układu odpornościowego lub jego podejrzenie u noworodka, warto wyjaśnić czy można te zaburzenia diagnozować w okresie noworodkowym i co stanowi o podejrzeniu tych nieprawidłowości. Wyłączono noworodki u których wystąpiły problemy z gojeniem się kikuta pępowinowego - kiedy rozpoznawano ten problem, skoro dzieci włączano zaraz po urodzeniu. Kolejnym kryterium wykluczenia ze strony matki były zapalenie gruczołu piersiowego i przeciwwskazania do karmienia piersią. Czy w pierwszych dniach połogu wystąpiło u matek kiedykolwiek zapalenie piersi? Jakie istnieją realne przeciwwskazania do karmienia piersią wśród zdrowych matek i noworodków? Dzieci przydzielono do dwóch grup, pierwszej - pielęgnowanej mlekiem własnej matki i drugiej - pielęgnowanej zgodnie z obowiązującymi rekomendacjami „na sucho". Protokół pielęgnacji pępka na sucho nieznacznie, ale jednak odbiega od przyjętych rekomendacji polskich, w których zaleca się po zabezpieczeniu jałowym zaciskiem założenie jałowego gazika. Oceniano w przeprowadzonym badaniu czas odpadnięcia kikuta pępowiny i objawy towarzyszące. Czy modyfikacja rekomendacji dotyczących suchej pielęgnacji nie mogła mieć wpływu na przedłużony czas mumifikacji i odpadnięcia kikuta? Czy na pewno obserwację noworodka prowadził lekarz pediatra zatrudniony w Oddziale Położnictwa i Perinatologii? Czy w trakcie hospitalizacji po urodzeniu noworodki nie znajdują się pod opieką lekarzy neonatologów? Kiedy pacjentki z dziećmi były wypisywane z oddziału? ile dni trwała procedura w trakcie hospitalizacji? Okres obserwacji wynosił 2 tygodnie czy wszystkie noworodki były pod opieką tego samego lekarza? Czy stan kikuta pępowiny oceniała tylko matka? Czy po 2 tygodniach dzieci wracały do oceny kikuta do osoby zlecającej matkom procedurę pielęgnacji ?

W etapie III dokonano oceny wybranych składników odżywczych mleka kobiecego oraz zawartości IL-1, IL-6 oraz EPO. W metodyce oznaczania cytokin opis dotyczy IL-1beta, czy oznaczano IL-1, czy IL-1beta? Do badania włączono kobiety, które wzięły udział w badaniu klinicznym, ale uzyskano mleko tylko od 19 matek, czy pozostałych 136 nie wyraziło zgody na pobranie mleka. W streszczeniu napisano, że próbki mleka uzyskane były od zdrowych kobiet w 3. dobie po naturalnym porodzie, w opisie metody nie zaznaczono rodzaju porodu, czy wykluczono kobiety po cięciu cesarskim? Dlaczego zalecano mycie piersi przed odciągnięciem mleka? Czy takie zalecenia otrzymywała każda matka karmiąca piersią swoje dziecko? Czy pozyskanie 15 ml po upływie 48 godzin od porodu nie pozbawiało dzieci możliwości pokrycia własnych potrzeb żywieniowych? Badania mikrobiologiczne wykonano tylko u 12 kobiet, dlaczego wykluczono kolejne pacjentki? Wykonano także izolację komórek adherentnych z mleka kobiecego. Komórki hodowano w warunkach in vitro i charakteryzowano na poziomie molekularnym. Pobierano aż 20-30ml mleka w 1-4 dobie po porodzie, jakie włączono pacjentki, czy karmiły swoje dzieci czy tylko odciągały pokarm? Jak uzyskano tak dużą objętość siary w

pierwszych dobach po porodzie? Czy zgodnie z procedurą dotycząca pozyskiwania mleka możliwe było mieszanie mleka z kolejnych odciągnięć w ciągu doby?

Wyniki przeprowadzonych badań zostały zaprezentowane bardzo szczegółowo. W pierwszym etapie średni wiek ankietowanych kobiet wynosił 30 lat (zakres 20-42). Ponad 60% kobiet pochodziło z miasta >100 tys. mieszkańców, ponad 80% wszystkich respondentek miało wykształcenie wyższe, niemedyczne. Pierworódki stanowiły 95,5% wszystkich respondentek. Zaledwie 1/3 ankietowanych wiedziała, że mleko kobiece może być wykorzystywane w sposób inny niż żywienie. Statystycznie częściej taką wiedzę miały kobiety posiadające już dzieci, ale wieloródki to zaledwie 4,5% badanych kobiet. 90,5% respondentek uważało, że należy przekazywać więcej informacji w mediach na temat ekologicznego macierzyństwa popartego faktami naukowymi, z czego istotnie statystycznie najwięcej było odpowiedzi twierdzących wśród osób z wykształceniem wyższym niemedycznym. Prawie 90% respondentek uważało, że w szkołach rodzenia, podczas wizyt patronażowych powinno się poświęcać więcej uwagi pielęgnacji naturalnej popartej faktami naukowymi. Chęć podjęcia pielęgnacji mlekiem kobiecym częściej deklarowały kobiety, które uważały, że należy częściej i więcej w mediach, w szkołach rodzenia oraz na wizytach patronażowych poruszać kwestie ekologicznego macierzyństwa, a także konsumentki żywności oraz kosmetyków ekologicznych. W etapie II dotyczącym stosowania mleka w pielęgnacji kikuta pępowiny średnia masa ciała noworodka w badaniu wynosiła około 3500g. Czas odpadnięcia kikuta ogółem w grupie pielęgnowanej mlekiem wynosił: 198,85±64,14 godz., w grupie która stosowała „suchą" pielegnację 249,4±1131,19 godz. Zastosowanie mleka w grupie dzieci urodzonych drogą pochwową wcześniej powodowało odpadnięcie pępowiny (186,0±53,45 godz.), niż pielęgnowanych na sucho (207,95 ±92,87 godz.).

W etapie III analizowane stężenia makroskładników mleka oraz IL-1 (7,86SD±9,48pg/mL), IL-6 (42,85SD ±75,34pg/mL), EPO (5,88SD ±8,06mIU/mL) nie wykazały zmienności zależnej od czasu odpadnięcia pępowiny. Aczkolwiek przy tak niewielkiej grupie badanych próbek mleka (<10% kobiet uczestniczących w badaniu) trudno wnioskować jednoznacznie. Głównym szczepem bakteryjnym izolowanym z mleka kobiecego był Staphylococcus epidermidis. Występował on w 8 próbkach (66,67 % wszystkich próbek). Kolejnymi szczepami były Streptococcus mitis oraz Staphylococcus aureus. Warto odnieść się do gronkowca złocistego, niestety obecny na śluzówkach i skórze noworodka może stanowić przyczynę niebezpiecznych dla życia noworodka schorzeń. W hodowli in vitro otrzymano kilka typów komórek. Komórki macierzyste zidentyfikowane w mleku wykazywały ekspresję genów pluripotencji, w odróżnieniu od komórek kontrolnych. Czy obecność tych komórek ma znaczenie dla pielęgnacji kikuta pępowiny?

Dyskusja została przeprowadzona w sposób poprawny. W tym rozdziale doktorantka wykazała się wszechstronną znajomością tematu, umiejętnością i łatwością omówienia wyników badań własnych i porównania ich z najnowszymi wynikami innych autorów, mimo skromnych danych światowych a jednocześnie stosunkowo licznych analiz i obszernego zakresu danych własnych. W podsumowaniu doktorantka zwróciła uwagę, że „Rosnące zainteresowanie pozażywieniowym wykorzystaniem mleka kobiecego pozwoli też ograniczyć zbędną medykalizację w tych obszarach, w których mleko kobiece - jako łatwo dostępny oraz bezkosztowy produkt, może być zastosowane bezpiecznie oraz skutecznie". Czy sucha pielęgnacja pępka, w której zasadnicze znaczenie ma suszenie i ochrona przed wilgocią bez podaży leków jest zmedykalizowaną procedurą?

Wnioski w pełni wynikają z uzyskanych analiz i odpowiadają celom pracy. Jednak w mojej ocenie zostały nadmiernie rozbudowane i przedstawione jednoznacznie w oparciu o małą grupę analiz przeprowadzonych tylko w Warszawie. Proponuje pewne drobne zmiany:

1. Znaczny odsetek kobiet ciężarnych w badanym rejonie Polski jest zainteresowany pozażywieniowymi możliwościami wykorzystania mleka kobiecego.
2. Poziom wykształcenia badanych kobiet w istotny sposób wpływa na zainteresowanie pielęgnacją kikuta pępowinowego własnym mlekiem u swojego dziecka.
3. Zastosowanie mleka kobiecego w pielęgnacji skracało o 20% czas odpadnięcia kikuta pępowiny w stosunku do czasu uzyskanego w rekomendowanej pielęgnacji na sucho.
4. Sposób zakończenia ciąży wpływał na czas gojenia się kikuta pępwinowego. Zastosowanie mleka kobiecego w pielęgnacji kikuta pępowinowego skracało o 10% czas odpadnięcia kikuta w grupie dzieci urodzonych drogą pochwową.
5. Nie wykazano zależności pomiędzy składem mleka i stężeniem IL-1, IL-6 oraz EPO w mleku kobiecym a czasem odpadniecia kikuta pielęgnowanego tym mlekiem.
6. Zastosowanie pielęgnacji kikuta pępowinowego mlekiem kobiecym nie wiązało się ze zwiększonym ryzykiem zakażenia pępka.
7. Mleko kobiece stosowane do pielęgnacji pępka zawierało wyłącznie bakterie Gram dodatnie.
8. Komórki macierzyste zidentyfikowane w mleku wykazywały ekspresję genów pluripotencjalności: OCT4, SOX2, NANOG, w odróżnieniu od komórek kontrolnych.

Z obowiązku Recenzenta muszę jeszcze zwrócić uwagę iż w nomenklaturze polskiej nie stosuje się określenia niska urodzeniowa masa ciała noworodka tylko mała urodzeniowa masa ciała, również nie separacja kikuta pępowinowego ale oddzielenie. Warto uwzględnić obowiązujące nazewnictwo przy przygotowaniu pracy do publikacji, zwłaszcza polskojęzycznej. Ponadto na str. 109 doktorantka użyła określenia ...stan dziecka u którego pediatra dokonujący oględzin... należy napisać Lekarz pediatra badający noworodka, bowiem stan dziecka można ocenić tylko na podstawie badania przedmiotowego i ewentualnie podmiotowego. W dyskusji str.113, 114 doktorantka pisze o IL-1 i IL-1beta, podobnie w omawianych wynikach, mimo, że w wynikach badań podano dane dotyczące tylko IL-1. W podsumowaniu warto wyjaśnić znaczenie komórek macierzystych w mumifikacji kikuta pępowiny a także terapeutyczne znaczenie potwierdzonych analiz. Zwłaszcza zdanie „Komórki macierzyste zidentyfikowane w mleku wykazywały ekspresję genów pluripotencjalności: OCT4, SOX2, NANOG, w odróżnieniu od komórek kontrolnych". Wymaga szerszego omówienia w trakcie publicznej obrony. Należy także zaznaczyć, że badaniami objęto kobiety uczęszczające do szkół rodzenia w Warszawie, zatem wyniki mogą nie odzwierciedlać danych krajowych. Badania mleka dotyczyły tylko kilkunastu matek spośród 155 włączonych do badania, zatem trudno wnioskować jednoznacznie, warto napisać, ze prawdopodobnie, co oczywiście może stanowić podłoże dalszych interesujących badań naukowych. Piśmiennictwo jak napisałam we wstępie bardzo dobrze dobrane i graficznie prawie idealnie opracowane, warto jednak w sposób jednorodny podać nazwiska autorów, albo wszyscy, albo 3 pierwszych autorów et al.

Rozprawa doktorska mgr Ewa Kamińskiej-El-Hassan, to wartościowe opracowanie naukowe, dostarczające nowych dla wiedzy klinicznej danych, które uzasadniają konieczność kontynuacji badań w tym zakresie, zwłaszcza, że spośród 9 publikacji dotyczących pielęgnacji pępka mlekiem kobiecym 4 pochodzą z Iranu, 2 z Pakistanu, 1 z Turcji i 1 z Indii.

Podsumowując stwierdzam, że drobne uwagi krytyczne nie mają wpływu na ocenę przedstawionej mi do recenzji pracy. Doktorantka w pełni odpowiedziała na zagadnienia postawione w celu pracy i wykazała się dużą wiedzą kliniczną i teoretyczną w temacie badania.

Rozprawa doktorska mgr Ewy Kamińskiej-El-Hassan, pt.: „ Ocena pozażywieniowych możliwości wykorzystania mleka kobiecego" odpowiada merytorycznym i formalnym wymogom stawianym na stopień doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki 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 zatem zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk o Zdrowiu Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego wniosek o dopuszczenie mgr Ewy Kamińskiej-El-Hassan do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik
Katedry i Kliniki Neonatologii

prof. dr hab. Barbara Królak-Olejnik

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
KATEDRA I KLINIKA NEONATOLOGII
kierownik
prof. dr hab. med. Barbara Królak-Olejnik