



CENTRUM MEDYCZNE
KSZTAŁCENIA
PODYPLOMOWEGO

Recenzja rozprawy
M. Paun-Borska

Barbara Baranowska
Kierownik Zakładu Położnictwa
Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego
barbara.baranowska@cmkp.edu.pl

Warszawa, 08.05.2023 r.

Dr hab. n. o zdr. Barbara Baranowska, prof. CMKP

Zakład Położnictwa CMKP

Ul. Żelazna 90

01-004 Warszawa

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Chrustek pt. „Analiza statusu antyoksydacyjnego i składu mleka kobiecego pozyskanego od matek mieszkających na terenie województwa kujawsko-pomorskiego w kontekście czynników matczynych” zlecona uchwałą Rady Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy z dnia 22.03.2023 r

Promotor: dr hab. n. med. Dorota Olszewska-Słonina, prof. UMK

Karmienie mlekiem matki stanowi złoty standard. Zgodnie z zaleceniami światowych towarzystw naukowych zaleca się rozpoczęcie karmienia w ciągu pierwszych godzin po porodzie, kontynuację wyłącznego karmienia mlekiem matki przez 6 miesięcy oraz kontynuację karmienia zgodnie z potrzebami matki i/lub dziecka. Mleko kobiece uznawane jest za aktywną biologicznie substancję, a karmienie mlekiem kobiecym za optymalny sposób nie tylko żywienia, ale również zapewnienia dziecku osłony immunologicznej czy właściwego mikrobiomu. Sam proces laktacji wspiera proces tworzenia więzi między matką a dzieckiem. Karmienie naturalne wiąże się z licznym długo i krótkoterminowymi korzyściami dla matek, dzieci i społeczeństwa. Dzieci karmione piersią mają mniejszą szansę na infekcję układu oddechowego, biegunki oraz są mniej zagrożone otyłością. Identyfikacja czynników warunkujących prawidłowy przebieg laktacji oraz czynników wpływających na odpowiedni skład mleka kobiecego wciąż stanowi temat badań. Rozwijająca się dziedzina - nauka o laktacji pokazuje zapotrzebowanie na pogłębianie badań w tym zakresie. W świetle pojawiających się nowych doniesień



dotyczących składu i właściwości pokarmu, praca podjęta przez mgr Agnieszkę Chrustek wydaje się jak najbardziej zasadna i celowa. Wyniki pracy dostarczają nowych informacji mogących dostarczyć implikacji klinicznych. Badanie przeprowadzona przez Doktorantkę wpisuje się w dyskusję toczącą się w tym obszarze w piśmiennictwie naukowy.

Celem pracy była analiza zmienności składu mleka kobiecego, wynikająca z wpływu czynników matczynych oraz statusu antyoksydacyjnego mleka, z uwzględnieniem długości karmienia. Hipotezą pracy był wpływ czynników matczynych na skład mleka kobiecego. Doktorantka analizuje w pracy status antyoksydacyjny oraz skład mleka kobiet długokarmiących w porównaniu z mlekiem dojrzałym z wykorzystaniem pokarmu: pochodzącego z porcji dziennej oraz nocnej; pochodzącego od weganek w porównaniu z mlekiem pochodzącym od kobiet niestosujących diet (z uwzględnieniem witaminy D, B6, żelaza, wapnia, fosforu, magnezu); pochodzącego od kobiet z niedoczynnością tarczycy w porównaniu z mlekiem pochodzącym od kobiet zdrowych; pochodzącego od kobiet obarczonych alergią w porównaniu z mlekiem kobiet zdrowych; pochodzącego od kobiet zamieszkujących teren województwa kujawsko-pomorskiego w zależności od miejsca zamieszkania. Tym samym we wnikliwy sposób scharakteryzowała skład i zmienność pokarmu kobiecego z uwzględnieniem podziału na grupy.

Charakterystyka i ocena formalna rozprawy doktorskiej

Układ pracy typowy dla dysertacji w obszarze nauk medycznych i nauk o zdrowiu, liczy 239 stron i podzielony jest na 10 rozdziałów zawierających wstęp oraz aneks. W pracy umieszczono 71 tabeli (uwzględnionych w spisie), 33 ryciny (uwzględnione w spisie) oraz 277 pozycji piśmiennictwa. Praca posiada spis treści, a także wykaz zastosowanych skrótów. Praca prezentuje staranną szatę edycyjną, jest napisana zgodnie z regułami języka polskiego. Błędy stylistyczne, interpunkcyjne i edytorskie są rzadkie. Na przeprowadzenie badań Doktoranta uzyskała zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy (zgoda nr KB437/2018).



Charakterystyka i ocena merytoryczna rozprawy doktorskiej

Rozbudowany rozdział „Wstęp”, podzielony na podrozdziały zawiera rys historyczny karmienia piersią, korzyści związane z karmieniem piersią, a także przeciwwskazania do karmienia piersią/mlekiem kobiecym, a także dane epidemiologiczne krajowe oraz ogólnoświatowe w odniesieniu do inicjacji i kontynuacji laktacji. Część poświęcona anatomii gruczołu sutkowego człowieka, etapom rozwoju gruczołu mlekowego wydaje się zbyteczna w odniesieniu do celów pracy. Za to dobrze rozwinięta część dotycząca regulacji laktacji oraz składu i funkcji mleka kobiecego wprowadza czytelnika w tematykę poruszaną w części eksperymentalnej pracy i uzasadnia celowość podjęcia się przez magister Agnieszkę Chrustek badań. Ta część teoretyczna pracy prowadzi w logiczny sposób do zdefiniowania założeń i celu badań przedstawionych w kolejnym rozdziale. Systematyczność i przejrzystość w opracowaniu treści części teoretycznej wynika z właściwie przyjętej koncepcji przygotowania rozprawy. Wstęp oparty jest na właściwie dobranym piśmiennictwie, uwzględniającym znaczący udział obcojęzycznych pozycji naukowych związanych z tematem dysertacji.

Podsumowując, mgr Agnieszka Chrustem prezentując obecny stan wiedzy, uzasadniła potrzebę podjęcia przedstawionej wyżej tematyki badawczej, a praca spełnia wymagane w tym zakresie od rozpraw doktorskich kryteria istotności i poprawności rzeczowej.

Właściwie i rzetelnie przedstawiony rozdział „Materiał i metody” wskazuje na logicznie zaplanowanie działań badawczych, a założenia i cele pracy zostały jasno i precyzyjnie określone. Doktorantka szczegółowo przedstawia przebieg badania, uzasadnia wybór grup badanej oraz kryteria włączenia i wyłączenia matek do badania. Praca obejmowała materiał pochodzący od 107 dawczyń mleka kobiecego (w tym 47 kobiet długokarmiących, 17 weganek, 29 kobiet chorujących na niedoczynność tarczycy, 27 kobiet chorujących na alergię, 53 kobiety mieszkające na obrzeżach miasta i we wsi stanowiących podgrupy w analizach porównawczych). Pokarm ludzki poddawany analizie pochodził ze zbiórki dziennej, zbiorczej (30 ml) oraz ze zbiórki nocnej (10 ml).

Analiza podstawowego składu mleka kobiecego obejmowała zawartość: tłuszczów, białka całkowitego, białka odżywczego, węglowodanów, suchą masę oraz wartość



energetyczną. Oznaczenia tych parametrów Doktorantka wykonała przy użyciu analizatora MIRIS HMATM przy wykorzystaniu spektroskopii transmisyjnej w środkowej części zakresu podczerwieni. Do oznaczenia stężenia hormonów użyła gotowych, komercyjnych testów zgodnie z procedurą producenta: w odniesieniu do TSH - testu immunoenzymatycznego, TSH ELISA (DiaMetra, Włochy); w odniesieniu do leptyny - testu immunoenzymatycznego, Human Leptin ELISA (BioVender, Czechy); w odniesieniu do adiponektyny - testu immunoenzymatycznego (Human Adiponectin/Acrp30, DuoSet ELISA, R&D systems, USA); w odniesieniu do kortyzolu - testu immunoenzymatycznego, Cortisol Elisa (DiaMetra, Włochy); w odniesieniu do melatoniny - testu immunoenzymatycznego, Salivary Melatonin (Salimetrics, USA). Do oznaczania całkowitej zdolności antyoksydacyjnej mleka kobiecego Doktorantka wykorzystowała gotowy, komercyjny test immunoenzymatyczny TAS (ImmunDiagnostic, Niemcy). W celu oznaczenia aktywności antyoksydacyjnej mleka kobiecego zastosowała metodę Atanassova i wsp. (2011) z drobnymi modyfikacjami. Zawartość polifenoli w mleku kobiecym oznaczyła metodą kolorymetryczną z użyciem odczynnika Folina-Ciocalteu. Stężenie paraoksonazy Doktorantka oznaczyła z wykorzystaniem gotowego, komercyjnego testu immunoenzymatycznego (Human Paraoxonase 1 ELISA, BioVender, Czechy). Do oznaczenia witamin, mikro- oraz makroelementów w mleku kobiecym wykorzystowała: w odniesieniu do żelaza - metody kolorymetrycznej z ferem zestaw odczynników firmy BioMaxima (Polska), w odniesieniu do magnezu - metody kolorymetrycznej z wykorzystaniem zestawu BioMaxima (Polska), w odniesieniu do fosforu - metody kolorymetrycznej z wykorzystaniem zestawu firmy BioMaxima (Polska), w odniesieniu do witaminy 25(OH)D3 (HVD3) - testu immunoenzymatycznego firmy Cloud-Clone Corp. (USA), w odniesieniu do witaminy B6 - testu immunoenzymatycznego z firmy Cloud-Clone Corp. (USA).

Analizę statystyczną wykonano przy wykorzystaniu pakietu oprogramowania Statistica 13.1 firmy StatSoft®. Normalność rozkładu zweryfikowano testem Shapiro-Wilka. Do oceny istotności statystycznej w dwóch grupach zmiennych niezależnych użyto nieparametrycznego testu U Manna-Whitneya. W celu porównania wielu grup zmiennych niezależnych zastosowano test Kruskala-Wallis.

Reasumując, zarówno zastosowana metodyka badań oraz wykorzystane metody i



narzędzia analizy statystycznej spełniają kryteria poprawności warsztatu naukowego oraz pozwoliły Doktorantce we właściwy sposób zrealizować założone cele badawcze.

Następnie, na 64 stronach wyniki badań zostały przedstawione opisowo, uzupełnione tabelami oraz rycinami, co ułatwia przekaz i odbiór treści. Doktorantka zaobserwowała, że mleko kobiet długokarmiących różniło się składem podstawowym, zawierając więcej tłuszczu, suchej masy, wartości energetycznej w próbkach dziennych i nocnych, a także białka całkowitego oraz odżywczego w próbkach nocnych w porównaniu z mlekiem dojrzalym. Ponadto Doktorantka wykazała, że mleko kobiece pochodzące z partii nocnej redukuje więcej rodnika DPPH•, zawiera wyższe stężenie polifenoli oraz PON1 w porównaniu z próbkami dziennymi, a także niższe stężenia melatoniny w próbkach dziennych w porównaniu z nocnymi. W badaniu mgr Agaty Chrustek mleko weganek charakteryzowało się podwyższonym stężeniem kortyzolu oraz niższym statusem antyoksydacyjnym w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast niższe TAS, FRAP w próbkach nocnych, stężenie PON1 oraz polifenoli zaobserwowała Doktorantka w mleku weganek w porównaniu do mleka kobiet niestosujących diet. Analizując stężenie witamin, mikro- i makroelementów, wykazała niższe stężenia żelaza oraz witaminy B6 w mleku weganek. W pokarmie pozyskanym od kobiet chorujących na niedoczynność tarczycy wykazała wyższe stężenie białka całkowitego oraz białka odżywczego w porównaniu z mlekiem kobiet zdrowych. TAS mleka kobiet chorujących na niedoczynność tarczycy był w pracy Doktorantki niższy w porównaniu z mlekiem zdrowych matek. Mleko kobiet zmagających się z alergią charakteryzowało się podwyższoną zawartością tłuszczu, suchej masy, wartości energetycznej) w porcji nocnej, a także wartości energetycznej w porcji dziennej w porównaniu z grupą kontrolną. Doktorantka nie zaobserwowała wpływu miejsca zamieszkania na status antyoksydacyjny mleka kobiecego w żadnej z badanych grup. W mleku kobiet mieszkających na obrzeżu miasta i we wsi stężenie kortyzolu oraz melatoniny w próbce nocnej było niższe w porównaniu z mlekiem kobiet mieszkających w centrum miasta.

W podsumowaniu analizy uzyskanych wyników badań Autorka sformułowała 7 wniosków szczegółowych wynikających z badań:

1. Skład i status antyoksydacyjny mleka kobiecego zmienia się w zależności od: fazy laktacji (mleko dojrzale/mleko kobiet długokarmiących), pory dnia (dzień/noc), diety



(weganizm), występowania chorób u kobiety karmiącej (niedoczynność tarczycy, alergia), miejsca zamieszkania matek (centrum miasta/obrzeże miasta i wieś) oraz rodzaju porodu.

2. Status antyoksydacyjny mleka kobiet długokarmiących utrzymuje się na tym samym poziomie jak mleka dojrzałego, co sugeruje zapewnienie dobrej ochrony przeciw wolnym rodnikom.

3. Mleko nocne zapewnia skuteczniejszą ochronę przeciw wolnym rodnikom w porównaniu z mlekiem dziennym.

4. Wyższe stężenie kortyzolu w mleku weganek może świadczyć o stresie pojawiającym się u kobiet karmiących, a także o zaburzeniach uwalniania glukozy, regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej i białkowej oraz osłabieniu ochrony przeciw wolnym rodnikom.

5. Zawartość witamin (B6) oraz mikroelementów (Fe) w mleku weganek potwierdza istnienie zmienności zależnej od sposobu odżywiania się.

6. Leczona niedoczynność tarczycy nie wpływa na zmiany poziomu badanych hormonów w mleku kobiecym.

7. Mieszkanie w centrum miasta może być bardziej stresujące, stąd wyższy poziom kortyzolu w pokarmie matek tam żyjących.

W dalszej części pracy, następuje sprawnie poprowadzona dyskusja wyników na tle badań już opublikowanych.

Streszczenia, zarówno polskojęzyczne, jak i w języku angielskim, odpowiadają zawartości rozprawy.

Lista piśmiennictwa zawiera 277 opisów bibliograficznych. Autorka zastosowała sposób sporządzania bibliografii załącznikowej według kolejności cytowania w tekście.

Reasumując recenzowana rozprawa doktorska jest kompleksowym opracowaniem, którego niewątpliwym osiągnięciem jest uwzględniająca wiele czynników analiza statusu antyoksydacyjnego i składu mleka kobiecego, uwzględniająca liczne korelacje pomiędzy parametrami składu podstawowego. Na szczególną uwagę zwraca również fakt uwzględnienia grupy kobiet długokarmiących. Badań w tym obszarze wciąż brakuje, a zebranie grupy badanej składająca się z kobiet długokarmiących stanowi



wyzwanie (z racji niskiego odsetka kobiet kontynuujących laktację po 1 roku życia w populacji polskiej). Wykazanie, że mleko matek długokarmiących zachowuje odpowiedni status oksydacyjny wzmacnia dotychczasowe opracowania wskazujące na korzyści karmienia piersią dzieci powyżej 1 roku życia. Dodatkowo, wykazanie, że mleko nocne zapewnia skuteczniejszą ochronę przeciw wolnym rodnikom w porównaniu z mlekiem dziennym może być kolejnym argumentem w zachęcaniu kobiet do karmień nocnych. Doceniam trafny wybór tematu, uwzględniający ważność problematyki badawczej, w której istnieją braki w wiedzy oraz potrzeby wskazania praktycznych rozwiązań. Wyniki opisane w recenzowanej rozprawie doktorskiej mają znaczący wkład w rozwój nauki o laktacji i opisie fenomenu mleka kobiecego.

Opierając się na całościowej ocenie - stwierdzam, że mgr Agnieszka Chrustek, wykazała się umiejętnością prowadzenia pracy naukowej, właściwym doбором metod i narzędzi badawczych, także rzetelnym i sumiennym podejściem do otrzymanych wyników, jak również niezbędnym w pracy naukowej krytycznym i zwięzłym spojrzeniem na otrzymane wyniki i twórczą dyskusją. W mojej opinii oceniana praca spełnia wymagane od rozpraw doktorskich kryteria istotności i poprawności rzeczowej.

Przy lekturze rozprawy doktorskiej mgr Agaty Chrustek nasuwają się też pewne uwagi i pytania:

W jakim okresie były prowadzone badania?

Czemu w ankiecie nie uwzględniono porodów zabiegowych, a jedynie „poród naturalny lub cięcie cesarskie”?

Czy grupa dawczyń mleka nie stanowi grupy wyjątkowej, jak często kobiety te oddawały pokarm i czy mogło to mieć wpływ na skład ich mleka?

Wniosek 6, oparty na grupie badanej składającej się z 29 kobiet z chorobami tarczycy wydaje się dość zdecydowany i odważny. Sugerowałabym zwiększenie grupy badanej (i doprecyzowanie czasu i dawek przyjmowania Euthyroxu), żeby jednoznacznie móc wykluczyć wpływ leczenia niedoczynności tarczycy na skład mleka.



Przydatne byłoby także wprowadzenie dokładniejszej informacji o diecie w przypadku weganek. W kryteriach podano, że kobiety włączone do grupy badanej stosowały dietę powyżej 3 lat i suplementację. Ustalanie statusu dietetycznego pytaniem „Jaki rodzaj odżywiania jest Pani najbliższy? Wegetarianizm/Weganizm/Jem wszystko?” znacząco może wprowadzać w błąd i nie stanowi w mojej opinii wystarczającego zakwalifikowania badanej do grupy osób przestrzegających diety wegańskiej, czy w tej sytuacji uwzględniano jedynie weganki, które w pytaniu nr 28 wpisały „dieta wegańska”? Nie ma tam też pytania, jak długo stosują dietę wegańską. Na jakiej podstawie więc kwalifikowano te kobiety.

Zdecydowanie Autorka nie powinna używać w rozprawie doktorskiej pojęcia „mama” (str.8, 11, 50), a zastąpić je słowami „matka” lub „kobieta karmiąca”. Sugerowałabym również określenie „dziecka przedwcześnie urodzonego” zamiast „wczesniaka”. Literówki i błędy edytorskie str. 11, 20, 41. „Ilość” powinno być zastąpione określeniem „liczba” ze względu na policzalność (str. 10, 134). Zamiast „tworzy unikalną więź”, lepiej użyć określenia „wzmacnia unikalną więź” (str. 14). W rycinie na str. 16 sugerowałabym usunięcie ze skali 120%. Chciałabym zwrócić uwagę na konieczności uzupełnienia stron w piśmiennictwie w pozycjach książkowych np. pozycja 5, 11, 12,14, 15, 16, 59, 62, 66, 102, 135, 143, 203 oraz ujednolicenie zapisów, poprzez usunięcie nazw miesięcy w zapisie w pozycjach 34, 49, 65, 69, 171.

Mam wątpliwości co do użycia określenia „obywatelstwa” jako zmiennej wpływającej na skład mleka, w publikacjach naukowych zazwyczaj wykorzystuje się do określenia „etniczności” albo „narodowości”, a nie „obywatelstwa”, które jest określeniem prawnym, a nie wskazuje na stan faktyczny.

Niniejsze uwagi, mają jednak charakter marginalny i nie umniejszają wartości rozprawy.



Wniosek końcowy

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiona do recenzji praca doktorska Pani mgr Agaty Chrustek zatytułowana „Analiza statusu antyoksydacyjnego i składu mleka kobiecego pozyskanego od matek mieszkających na terenie województwa kujawsko-pomorskiego w kontekście czynników matczynych”, stanowi oryginalne rozwiązanie istotnego problemu naukowego oraz spełnia wymogi stawiane rozprawom naukowym zgodnie z Ustawą z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz. U. z 2017 r., poz. 1789), jak również art. 187 Ustawy z 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2022 r. poz. 574 z późn. Zm.). W związku z powyższym, przedstawiam Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauki Medyczne Collegium Medicum im L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu wniosek o dopuszczenie Pani mgr Agaty Chrustek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kierownik
Zakładu Położnictwa
Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego
Barbara Baranowska
dr hab. n. o zdr. Barbara Baranowska, prof. CMKP