

Warszawa 27 12 2018

Prof. dr hab. med. Urszula Demkow

Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wieku Rozwojowego

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Recenzja pracy doktorskiej

Lek. med. Anastasiyi Zasimovich pt: "Charakterystyka obrotu kostnego u kobiet w ciąży fizjologicznej i powikłanej porodem przedwczesnym".

Ciąża jest stanem, w którym w organizmie kobiety zachodzi intensywna przebudowa układu kostnego, zależna od przeciwstawnych procesów kościotwórczych i kościogubnych. Za zrównoważenie tych dwóch procesów odpowiedzialne są swoiste komórki tkanki kostnej osteoblasty, odpowiadające za procesy syntezy oraz osteoklasty, które wpływają na resorpcję kości. Złożoność mechanizmów uczestniczących w przemianach kostnych powoduje, że w diagnozowaniu zaburzeń tych procesów oznacza się stężenie zarówno markerów budowy, jak i resorpcji kości. Oceniane są między innymi stężenia wapnia i fosforu oraz ich wydalanie w moczu, stężenie parathormonu (PTH), metabolity witaminy D3, ponadto stężenia markerów tworzenia kości: fosfatazy alkalicznej (ALP) całkowitej i specyficznej (izoenzym kostny), osteokalcyny i innych. Uważa się, że poziom stężeń odpowiednich markerów biochemicznych odzwierciedla aktywność przemian kości. Celem pracy doktorskiej jest ocena procesu przemian kostnych u ciężarnych, które urodziły o czasie w porównaniu do matek wcześniaków. Wybór tematu pracy doktorskiej ma istotne znaczenie zarówno poznawcze jak i praktyczne. Wiedza o metabolizmie kostnym w prawidłowej lub patologicznej ciąży i okresie karmienia pomogłaby wyodrębnić grupy ryzyka zmniejszonej mineralizacji kości w późniejszym okresie życia, u których można by było zastosować terapię zapobiegającą osteoporozie. Jest to ważne i nierozstrzygnięte zagadnienie istotne z uwagi na coraz dłuższy średni czas życia kobiet i rosnące z wiekiem ryzyko złamań osteoporotycznych. Z drugiej jednak strony fakt, że obrót kostny jest bardziej intensywny w czasie ciąży nie powinien być hipotezą badawczą gdyż jest to zjawisko doskonale znane i wielokrotnie potwierdzone w literaturze.

Przedstawiona praca ma typowy układ rozpraw na stopień doktora nauk medycznych. Starannie przygotowany maszynopis pracy liczy 100 stron, jest podzielony na 5 rozdziałów, opatrzone jest 26 czytelnymi rycinami, oraz 10 tabelami i zawiera zestawienie 92 pozycji piśmiennictwa.

Zasadniczym celem przeprowadzonych badań była ocena zależności pomiędzy czasem zakończenia ciąży a markerami obrotu kostnego (Ca, P, ALP, BALP, PTH, witaminy D3, CTX-1, osteokalcyny, GLU-OC9 (Niedokarboksylowanej osteokalcyny), GLA-OC (karboksylowanej osteokalcyny).

Doktorantka oceniła markery obrotu kostnego u kobiet ciężarnych na różnych etapach trwania ciąży i po jej zakończeniu oraz parametry określające stan zdrowia noworodka w zależności od czasu trwania ciąży i poziomu wybranych markerów. Ustosunkowała się także do przestrzegania zaleceń PTG i PTE dotyczących suplementacji witaminą D3 w czasie ciąży. Do badania włączono 115 kobiet (89 ciężarnych i 26 nieciężarnych, które nigdy nie były w ciąży). Grupę kobiet ciężarnych (w wieku 18 – 40 lat) podzielono na 2 podgrupy: pacjentki, które urodziły przedwcześnie (33) oraz w terminie (56). Wiek ciążowy w chwili porodu przedwczesnego 26 - 36 tydzień ciąży (średnio 34 tydzień). Do kryteriów wyłączenia należała obecność chorób przewlekłych i ciąża mnoga. Dane osobowe i informacje o przebiegu ciąży i stanie zdrowia zebrano na podstawie opracowanego kwestionariusza. We wstępie Doktorantka przedstawiła informacje o przebiegu ciąży, przyczyny porodu przedwczesnego, współczesną wiedzę o obrocie kostnym i markerach metabolizmu kostnego, metodach obrazowych badania gęstości i jakości kości oraz szczegółowe informacje o obrocie kostnym w ciąży. Wstęp dobrze uzasadniał podjęcie badań w ramach przedstawionej pracy doktorskiej. Nie podano jednak istotnej informacji w jakim odstępie czasowym od porodu pobierano krew na badania. Dodatkowo 30% kobiet zagrożonych porodem przedwczesnym było leczonych sterydami, co w istotny sposób wpływało na obrót kostny. Tej grupy nie wydzielono z obliczeń. Sterydy powodują zaburzenie równowagi między procesem tworzenia i resorpcji kości prowadząc do zmniejszenia ilości osteoidu, a co za tym idzie do zmniejszenia zasobów mineralnych kości. Myślę, że warto wyodrębnić tę grupę ciężarnych celem sprawdzenia czy podawanie sterydów matce, jak rozumiem celem przyspieszenia dojrzewania płuc płodu, wpływa na stan jej kośćca.

W rozdziale „materiały i metody” przedstawione zostały techniki laboratoryjne stosowane do oznaczeń markerów kostnych. Opisane zostały również kryteria oceny stanu urodzeniowego dziecka i zasady pomiarów antropometrycznych. Masa i długość ciała wcześniaków były mniejsze niż noworodków donoszonych. Pewnym ograniczeniem przedstawionej pracy jest różnica wieku pomiędzy kobietami ciężarnymi (średni wiek około

30 lat), i nie będącymi w ciąży (23 lata). Różnica wieku pomiędzy oboma grupami może istotnie wpływać na masę kostną i metabolizm kostny. Fakt, że kobiety rodzą coraz później nie może być wytłumaczeniem niedobrania odpowiedniej wiekowo grupy kontrolnej. Celowe byłoby dobranie grupy kontrolnej kobiet nigdy nie będących w ciąży, w wieku porównywalnym z grupą ciężarnych. Ważny jest natomiast fakt, iż doktorantka dobrała grupę badaną i kontrolną porównywalną pod względem BMI.

Pozytywnym aspektem pracy jest profesjonalnie przeprowadzona analiza statystyczna wyników. Stężenie wapnia i fosforu w surowicy nie różniło się pomiędzy badanymi grupami kobiet ciężarnych. Jednakże stężenie wapnia w surowicy nie ma istotnego znaczenia diagnostycznego i nie odzwierciedla zasobów wapnia w kościach. Stężenie może być prawidłowe przy poważnym deficycie minerału kostnego, jak również zdecydowanie podwyższone w hipofosfatemii. Lepszym markerem mineralizacji kości byłoby wydalanie wapnia i fosforanów z moczem. Nie podano również czy badano stężenie wapnia całkowitego czy zjonizowanego. W obliczeniach nie uwzględniono także poziomu albuminy, której stężenie znacząco obniża się w ciąży, a od której zależy stężenie wapnia całkowitego gdyż jest jego nośnikiem. Warto odnieść się do tych informacji przed przygotowaniem pracy do druku. Doktorantka wykazała, że stężenia witaminy D3 były niższe w obu grupach ciężarnych, PTH pozostawał w zakresie wartości referencyjnych w obu podgrupach, stężenia osteokacyny, CTX-1 i GLU-OC nie różniły się w obu podgrupach. Istotnie niższy poziom ALP oraz BALP a także GLA-OC i Gla-OC/Glu-OC obserwowano w grupie kobiet, które urodziły przedwcześnie. Nie opisano metodyki oznaczeń witaminy D3, nie podano również jaki metabolit witaminy D3 był badany. Metodyka oznaczeń (immunochemiczna lub spektrometria masowa) bardzo istotnie wpływają na wyniki oznaczeń związków sterydowych, do których należą pochodne cholekalcyferolu. W pracy naukowej zalecane jest również używanie nazwy chemicznej badanego związku a nie popularnej terminologii – witamina D.

Kolejnym celem badań było porównanie wyników badań laboratoryjnych pomiędzy grupą kobiet, które urodziły przedwcześnie a grupą kontrolną zdrowych kobiet. Odnosząc się do wyników badań nie powinno się używać sformułowania „normy laboratoryjnej” ale „wartości referencyjnej”. Nie obserwowano statystycznie istotnych różnic w stężeniu wapnia, fosforu, PTH oraz witaminy D3 pomiędzy oboma grupami. Na uwagę zasługuje ważny wniosek, że w każdej z badanych podgrup kobiet stężenie witaminy D3 było poniżej dolnego progu wartości referencyjnych. Podobnie zresztą niskie stężenia witaminy D3 obserwowano u w grupie kontrolnej. Jest to zgodne z powszechną obserwacją, że w naszej strefie klimatycznej większość społeczeństwa cierpi na niedobór tej witaminy. Bardzo wartościową, z praktycznego punktu widzenia, częścią pracy jest odniesienie się do tej obserwacji i do

przestrzegania zaleceń dotyczących suplementacji. Kolejno obserwowano wyższe stężenia osteokalcyny oraz Glu-OC i GLA-OC u kobiet nieciężarnych w porównaniu do grupy kobiet, które urodziły przedwcześnie. CTX-1 i ALP były wyższe u matek wcześniaków.

W obu grupach kobiet ciężarnych BALP istotnie korelowało ze stężeniem OC. Osteokalcyna i CTX-1 rosły istotnie wraz z trwaniem ciąży. Porównano również cechy antropometryczne noworodków w zależności od stężenia markerów kostnych u matek wcześniaków i dzieci donoszonych. U matek wcześniaków BALP korelowało pozytywnie z masą urodzeniową noworodka, długością ciała i wskaźnikiem wagowo/wzrostowym oraz Glu-OC. Natomiast korelacja ujemna była obserwowana pomiędzy tymi parametrami a CTX-1/OC. U dzieci donoszonych stwierdzono odwrotną korelację pomiędzy stężeniem wapnia a masą urodzeniową dziecka. Aktywność fosfatazy zasadowej korelowała pozytywnie z masą urodzeniową i długością noworodków donoszonych.

W rozdziale dyskusja doktorantka przedstawia wyniki własnych badań w świetle doniesień innych autorów. Autorka zauważa istotną różnicę wieku pomiędzy grupą ciężarnych a grupą kobiet niebędących w ciąży. Doktorantka sądzi, że istotniejszym czynnikiem wpływającym na obrót kostny jest gospodarka hormonalna a nie wiek. Jest to słuszne w pewnym niewielkim przedziale wieku. Jednakże brakuje informacji na temat statusu hormonalnego u kobiet nieciężarnych tj regularności i prawidłowości cykli miesięcznych, stosowania antykoncepcji hormonalnej, eutyreozy itp., a także ich aktywności ruchowej. Autorka stwierdza, że aktywność BALP jest wyższa u kobiet, które urodziły o czasie w stosunku do matek wcześniaków. Podobnie poziom innych markerów kościotworzenia u kobiet rodzących przed czasem jest niższy. Ta obserwacja jest ciekawa, jednak brak jest dyskusji tego zjawiska. Resorbcja ma przewagę nad kościotworzeniem w ciąży zgodnie z obserwacjami wielu autorów. Jest to niezgodne z inną obserwacją, że obrót kostny nasila się wraz z czasem trwania ciąży. Także i ta obserwacja nie znalazła interpretacji. Jeszcze raz podkreślam znaczenie obserwacji o powszechnym nieprzestrzeganiu zaleceń o suplementacji witaminy D3 Nie jest jasne czy wynika to z nieświadomości lekarzy czy z non-compliance ich pacjentek.

Pracę kończy krótkie podsumowanie połączone z wnioskami. Doktorantka potwierdza, że obrót kostny w ciąży jest przyspieszony (wzrost stężenia markerów kościotworzenia i resorpcji kości), a przedwczesna terminacja ciąży zmniejsza nasilenie tych procesów. Metabolizm kostny u matki nie jest związany z masą urodzeniową dziecka. Niejasny jest wniosek sugerujący, że należy monitorować metabolizm kostny u wcześniaków z wyższą masą urodzeniową wynikający z obserwacji, że ich matki miały bardziej nasilone

kościotworzenie. Bardzo istotny i wymagający szerokiego upowszechnienia jest natomiast wniosek o konieczności lepszego przestrzegania zaleceń suplementacji witaminą D u kobiet w ciąży.

Podsumowując, przedstawioną mi do recenzji pracę doktorską oceniam dobrze. Zaprezentowana praca jest odpowiedzią na ciąg zadawanych pytań dotyczących badanego zagadnienia, jest dowodem pracowitości Doktorantki i wytrwałości w dążeniu do wyznaczonego celu. Kontynuując prace nad procesem przemian kostnych w ciąży warto również uwzględnić inne czynniki znacząco modyfikujące przemiany kostne jak na przykład aktywność ruchowa w ciąży. Przedstawiona do oceny rozprawa niewątpliwie zachęca do prowadzenia badań dotyczących opisywanych problemów.

W oparciu o przedstawioną analizę stwierdzam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska lek. med. Anastasiyi Zasimovich pt: "Charakterystyka obrotu kostnego u kobiet w ciąży fizjologicznej i powikłanej porodem przedwczesnym" spełnia kryteria uprawniające do nadania stopnia doktora w obszarze nauk medycznych. Tym samym zwracam się do Rady Naukowej Instytutu Matki i Dziecka z wnioskiem o dopuszczenie lek. med. Anastasiyi Zasimovich do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab n. med. Urszula Demkow

