



Łódź, dn. 8.01.2016r.

**Prof. dr hab. n. med. Danuta Chlebna-Sokół**

*Kierownik Kliniki Propedeutyki Pediatrii i Chorób Metabolicznych Kości*

*I Katedry Pediatrii, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi*

### **Recenzja pracy doktorskiej**

**lek. Joanny Stępień**

**pt. „Ocena progu nerkowego dla fosforanów oraz wydalania wapnia  
i fosforanów nieorganicznych z moczem u dzieci urodzonych przedwcześnie  
i/lub z niską urodzeniową masą ciała”**

Choroba metaboliczna kości wcześniaków, do niedawna stosowano termin: *osteopenia wcześniaków*, to coraz bardziej aktualny problem i nie w pełni doceniany przez neonatologów **jako ważny dla przyszłego rozwoju i stanu zdrowia**. Potrzeba docenienia tego problemu wiąże się m.in. z nadal wysokim współczynnikiem wcześniactwa i wzrostem przeżywalności wcześniaków ze skrajnie małą masą urodzeniową oraz z nieopracowanymi, do powszechnego wdrożenia, wytycznymi dotyczącymi rozpoznawania, leczenia i monitorowania efektów leczenia choroby metabolicznej kości wcześniaków. (Metabolic Bone Disease-MBD).

Etiopatogeneza choroby jest bardzo złożona i zróżnicowana; jej występowanie jest udowodnione u 55% do 60% wcześniaków urodzonych z ekstremalnie małą masą ciała (poniżej 1000g), i u około 16-40% dzieci urodzonych z masą ciała poniżej 1500g, co wiąże się ze skróconym okresem gromadzenia w szkielecie płodu jonów wapnia i fosforu. Czynnikiem sprzyjającymi są powikłania wcześniactwa (dysplazja oskrzelowo-płucna, martwicze zapalenie jelit, karmienie pozajelitowe i inne), mała aktywność ruchowa, sedacja oraz współistniejące różne przyczyny powodujące zniekształcenia kośćca.

Zarówno przebieg choroby metabolicznej kości, jak też jej następstwa są dużym obciążeniem dla dziecka urodzonego przedwcześnie. Zaburzenia narządowe i zniekształcenie kośćca po przebytych, czasem licznych, złamaniach mogą stanowić odległe, późne powikłania w stanie

zdrowia i rozwoju. Dlatego też bardzo ważne jest wczesne rozpoznanie tego zaburzenia, które początkowo może przebiegać skąpoobjawowo oraz zastosowanie właściwego leczenia. W tym względzie istotne znaczenie przypisuje się dogłębnej znajomości procesów biochemicznych w najwcześniejszym okresie życia wcześniaka i ich wykorzystaniu dla szybkiego, wczesnego rozpoznania choroby metabolicznej kości.

Dlatego też **temat pracy doktorskiej** lek. Joanny Stępień, który dotyczy problemu wczesnego wykrywania tej choroby u dzieci przedwcześnie urodzonych na podstawie biochemicznych wskaźników diagnostycznych **uważam za interesujący i oryginalny oraz bardzo przydatny praktycznie.**

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska zawiera 88 stron jednostronnie wypełnionego maszynopisu, wraz z tabelami i rycinami, wykazem skrótów, streszczeniem (w języku polskim i angielskim), spisem piśmiennictwa oraz spisem tabel i rycin. Tabele w liczbie 13 i 4 ryciny zamieszczone są w tekście pracy. Praca ma układ typowy i składa się z 9 rozdziałów.

**We wstępie** Doktorantka bardzo dokładnie omawia rozwój szkieletu w okresie płodowym oraz gospodarkę wapniowo-fosforanową, z uwzględnieniem metabolizmu witaminy D, parathormonu i kalcytoniny, w okresie prenatalnym i postnatalnym. Opierając się na aktualnym piśmiennictwie, szczególnie dużo uwagi poświęca zagadnieniom dotyczącym choroby metabolicznej kości wcześniaków. **Sposób zaprezentowania we wstępie wiedzy z wyżej wymienionego zakresu, dowodzi dobrego przygotowania Autorki do podjęcia samodzielnych badań i opracowania uzyskanych wyników.**

**Cele główne pracy to:**

- oszacowanie wartości progu nerkowego dla fosforanów u dzieci urodzonych pomiędzy 23 a 32 tygodniem życia płodowego, w okresie do 40 tygodnia życia postkonceptyjnego, oraz określenie różnicy w zakresie wartości progu nerkowego dla fosforanów u dzieci urodzonych pomiędzy 23 a 26 tygodniem ciąży w odniesieniu do tej wartości u dzieci urodzonych pomiędzy 27 a 32 tygodnia ciąży,
- uzyskanie odpowiedzi na pytanie czy wybrane czynniki, takie jak: leczenie aminoglikozydami, steroidami, diuretykami, kofeiną, ibuprofenem oraz suplementacja fosforanami lub podaż wzmocniacza pokarmu kobiecego wpływają na wydalanie wapnia i fosforanów nieorganicznych z moczem w badanej grupie pacjentów.

## Pacjenci i metody badań

Badaniami objęto 49 noworodków, urodzonych pomiędzy 23 a 32 tygodniem życia płodowego hospitalizowanych w Oddziale Intensywnej Terapii i Patologii Noworodka Szpitala Specjalistycznego nr 2 w Bytomiu.

Kryteria włączenia do badania to wiek płodowy  $\leq 32$  tygodnie oraz żywienie drogą przewodu pokarmowego do co najmniej 50% pokrycia dobowego zapotrzebowania, natomiast kryteria wyłączenia stanowiły: martwicze zapalenie jelit lub wstrząs w okresie hospitalizacji oraz długotrwałe ( $\geq 4$  tygodni) całkowite żywienie pozajelitowe.

Dla oceny różnic zależnych od stopnia dojrzałości zastosowano podział na 2 grupy uwzględniający wiek płodowy. Pierwsza – 8 dzieci urodzonych pomiędzy 23 a 26 tygodniem ciąży, a druga – 41 urodzonych pomiędzy 27 a 32 tygodniem ciąży. Wszystkie dzieci w okresie badania były stabilne hemodynamicznie i nie wymagały wsparcia oddechowego; były karmione pokarmem matki lub mieszanką dla wcześniaków albo stosowano karmienie mieszane. Doktorantka dokładnie opisuje sposób karmienia, suplementację m.in. wit. D i dodatkowe leki. Charakterystyki pacjentów obejmujące wiek postkonceptyjny, sposób żywienia i stosowane leki całej badanej grupy, oraz w poszczególnych momentach badań przedstawia w tabelach w sposób bardzo przejrzysty i ułatwiający Recenzentowi dogłębną ocenę analizy różnicowej grup badanych wcześniaków.

## Metoda badań biochemicznych

W obydwu grupach dzieci oznaczono stężenia wapnia, fosforanów nieorganicznych i kreatyniny w surowicy oraz równocześnie w pojedynczej próbce moczu. Badania w identyczny sposób wykonywano co 2 tygodnie, 4 krotnie, począwszy od 3 tygodnia życia, czyli około 3, 5, 7, 9 tygodnia życia.

Istotne znaczenie dla wartości pracy, w tym założonych celów, posiada określenie proggu nerkowego dla fosforanów (TP/GFR) wyliczanego ze wzoru (za Alon i Hellerstein)

$$TP/GFR = Sp - \frac{Up * Scr}{Ucr}, \text{ gdzie:}$$

Sp – stężenie fosforanów w surowicy

Up – stężenie fosforanów w moczu

Scr – stężenie kreatyniny w surowicy

Ucr – stężenie kreatyniny w moczu

Wydalanie wapnia i fosforanów z moczem przedstawiono jako stosunek (iloraz) wapnia do kreatyniny (UCa/Kr) i fosforanów nieorganicznych do kreatyniny (UPi/Kr) w moczu; była także oznaczana fosfataza zasadowa.

**Dobór metod biochemicznych jak też statystycznych uważam za poprawny i właściwie dostosowany do przeprowadzenia badań i interpretacji wyników.**

### **Wyniki badań i ich omówienie**

Wykorzystując informacje z piśmiennictwa, jak też zapewne własną wiedzę kliniczną, lek. Joanna Stępień zajęła się w swojej pracy oceną wskaźników biochemicznych mających istotne znaczenie we wczesnym (poprzedzającym znacznie objawy kliniczne) rozpoznaniu choroby metabolicznej kości wcześniaków (MBD). Spośród nich najważniejsze znaczenie posiadają wskaźniki gospodarki wapniowo-fosforanowej, gdyż niedobór wapnia i fosforanów jest udokumentowanym czynnikiem etiologicznym MBD.

**W mojej opinii na wyróżnienie zasługuje określenie u tak bardzo niedojrzałych dzieci progę nerkowej dla fosforanów (TP/GFR).** Opierając się na piśmiennictwie z tego zakresu, Doktorantka zastosowała w tym celu wzór (za Alon i Hellerstein) dla dzieci, dobrze odzwierciedlający wartość cewkowej reabsorpcji fosforanów, a także wyliczała wskaźnik cewkowej reabsorpcji fosforanów (TRP) w procentach.

Przeprowadzone badania wykazały, że w grupie bardziej niedojrzałych noworodków próg nerkowy dla fosforanów był istotnie statystycznie, prawie dwukrotnie, niższy w porównaniu, do urodzonych w starszym wieku płodowym; a normalizacja wartości tego wskaźnika, nastąpiła po 7 tyg. życia. Obniżona wartość TP/GFR zawsze wiąże się z większą utratą fosforanów z moczem i obniżeniem stężenia fosforanów w surowicy, co wykazano w niniejszej pracy. Trzeba podkreślić, że u tych noworodków nie występowały widoczne objawy kliniczne choroby metabolicznej kości. **Spostrzeżenie to uważam za bardzo ważne dla wartości pracy, w której Autorka wykazała istotną wartość diagnostyczną tego wskaźnika we wczesnym rozpoznawaniu MBD.**

Wyniki te są zgodne z pracami innych autorów ale prace z tego zakresu są bardzo nieliczne i nie spotykane w piśmiennictwie polskim. Jednocześnie jest to wskazanie do suplementacji fosforanami i monitorowania jej dla ustalenia właściwych dawek u tak niedojrzałych dzieci.

Podobnie jak to jest w badaniach innych autorów, u tych samych dzieci w miarę dojrzewania, czyli w kolejnych badaniach wartość progę nerkowej dla fosforanów wyraźnie się

zwiększyła. Doktorantka w dyskusji pracy wyjaśnia możliwe mechanizmy tych zmian, które wiążą się z postępującym rozwojem organizmu noworodka urodzonego przedwcześnie.

Natomiast wskaźnik wydalania fosforanów z moczem (UPi /Kr) zwiększał się w kolejnych badaniach, ale nie było różnic istotnych statystycznie w tym zakresie pomiędzy grupami wcześniaków. A zatem zarówno wartość tego wskaźnika jak też wskaźnika cewkowej reabsorpcji fosforanów z moczem (TRP) mają mniejsze znaczenie diagnostyczne we wczesnym wykrywaniu lub zagrożeniu chorobą metaboliczną kości w porównaniu do wartości progu nerkowego fosforanów. Interesujące w ocenianej przez mnie pracy są także wyniki wydalania wapnia z moczem (wsk. Ca/Kr), które było wyższe (istotne statystycznie w badaniu w 5 tygodniu życia) w grupie bardziej niedojrzałych wcześniaków. Wraz ze zwiększonym wydalaniem wapnia występowało u nich niższe stężenie fosforanów w surowicy oraz niższe wartości progu nerkowego. Uzyskane przez siebie wyniki dotyczące hiperkalciurii Doktorantka omawia i porównuje w dyskusji z badaniami innych autorów.

Ponadto okazało się, że znamienne statystycznie hiperkalcurię zwiększało leczenie kofeiną, diuretykami i ibuprofenem, natomiast suplementacja fosforanami i podaż wzmacniacza pokarmu kobiecego powodowały zmniejszenie wydalania wapnia z moczem.

**Wyniki tych badań mają dużą wartość praktyczną.** Chciałabym jeszcze zwrócić uwagę na aktywność fosfatazy zasadowej w badanych grupach dzieci, której wartości były wysokie, ale w żadnym badaniu nie przekraczały liczby 900IU/l, uznanej za jeden z dwóch istotnych wskaźników MBD. A zatem i to badanie nie ma tak dużej wartości w subklinicznym okresie choroby metabolicznej kości jak wartość progu nerkowego fosforanów.

## **Wnioski**

W liczbie 7 odpowiadają na cele pracy. Z reguły w pracach doktorskich niektóre wnioski z badań przedstawiane są jako stwierdzenia i tak też postąpiła Autorka pracy. Nie krytykuję tego, ale przy publikowaniu pracy proponowałabym rozważyć skrócenie niektórych z nich (5) czy połączyć np. 6 i 7 wniosek.

**Piśmiennictwo** w liczbie 97 pozycji jest właściwie i starannie dobrane tematycznie, uporządkowane w kolejności cytowania w pracy. Stanowią je prawie w całości publikacje zagraniczne, co wynika niewątpliwie z braku badań, a zatem i prac z tego zakresu, w piśmiennictwie polskim.

## Opinia końcowa

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska dotyczy wczesnego wykrywania bardzo poważnego powikłania wcześniactwa, jakim jest choroba metaboliczna kości. Ze względu na możliwość następstw, którymi są zaburzenia w rozwoju i stanie zdrowia dzieci z jednej strony, a z drugiej - często późne pojawienie się objawów klinicznych, rozpoznanie w okresie zaburzeń biochemicznych, poprzedzających klinikę, ma ogromnie ważne znaczenie praktyczne.

Typowe dla rozpoznania choroby wartości wskaźników biochemicznych upoważniają bowiem do wdrożenia leczenia, a także są przydatne do monitorowania jego przebiegu i skuteczności zastosowanej terapii.

Taki praktyczny aspekt pracy doktorskiej zasługuje na szczególne wyróżnienie. Ustalenie przydatności jednego najważniejszego w tym względzie wskaźnika (próg nerkowy dla fosforanów), który może być oznaczany nieinwazyjnie u dzieci z bardzo małą masą urodzeniową uważam za niezwykle wartościowe w praktyce neonatologicznej. Oprócz tego, wyniki badań dotyczące tego wskaźnika wnoszą poznawcze i oryginalne spostrzeżenia w dziedzinie oceny gospodarki wapniowo-fosforanowej u najbardziej niedojrzałych dzieci przedwcześnie urodzonych.

Praca jest napisana poprawnym językiem, przejrzystie, czytelnie i starannie.

Właściwie to nie mam żadnych uwag merytorycznych, a spośród drobnych uchybień w tekście zwróciłabym uwagę na nie używanie terminu : „sterydy” tylko „ steroidy” moim zdaniem „choroba” jest poprawniejszym terminem w porównaniu do „schorzenia”. Nie bardzo też rozumiem użycia w tytule pracy „i/lub” przecież wszystkie dzieci były urodzone przedwcześnie „i” z niską masą ciała; neonatolodzy zwracają uwagę na określenie, że masa urodzeniowa jest „mała” a nie „niska”. Oczywiście te uwagi nie mają większego znaczenia, sugeruję aby je rozważyć; w niczym nie umniejszają wartości pracy, którą oceniam bardzo wysoko.

W związku z tym przedkładam Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. Joanny Stępień do dalszych etapów przewodu doktorskiego

Prof. dr hab. n. med.  
Danuta CHLEBNA-SOKÓŁ  
Specjalista Chorób dzieci  
I Medycyny Wieków Rozwojowego  
4008427

KIEROWNIK  
KLINIKI PROPEDEUTYKI PEDIATRII  
I CHOROBY METABOLICZNYCH KOŚCI  
Katedry Pediatrii  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Prof. dr hab. n. med. Danuta Chlebna-Sokół