

Olsztyn, 30 kwietnia 2026 r.

Prof. dr hab. Krzysztof Wąsowicz
Katedra Patofizjologii, Weterynarii Sądowej
i Administracji Weterynaryjnej
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. wet. Beaty Giercuskiewicz-Hecold pt. „Znaczenie suplementacji astaksantyną u koni wyczynowych”.

Podstawą prawną przygotowania recenzji jest uchwała Rady Dyscypliny Weterynaria Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie z dn. 18 marca 2026 r. i pismo Przewodniczącego Rady Naukowej Dyscypliny Weterynaria SGGW w Warszawie z dn. 19 marca 2026 r.

Rozprawa doktorska lek. wet. Beaty Giercuskiewicz-Hecold została przygotowana w Instytucie Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, w ramach Szkoły Doktorskiej, pod kierownictwem Promotorów: prof. dr hab. Anny Cywińskiej z Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu i prof. dr hab. Krzysztofa Marycza z International Institute of Translational Medicine w Malinie.

Rozprawa doktorska oparta jest o trzy opublikowane recenzowane artykuły naukowe, w których Doktorantka jest pierwszym autorem:

1. **Giercuskiewicz-Hecold, B.**, Pajuelo, D., Steczkiewicz, Z., Cywińska, A., & Marycz, K*. (2025). Astaxanthin supplementation in Arabian racing horses mitigates oxidative stress and inflammation in peripheral blood mononuclear cells through enhanced mitophagy. *Scientific Reports*, 15, Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-93661-7>. **IF=3,9; 140 pkt MNiSW**
2. **Giercuskiewicz-Hecold, B.**, Kulka, M., Czopowicz, M., Wilczak, J., Szarska, E., Strzelec, K., Grzeczka, A., Graczyk, S., Hryniszyn, A., Mularczyk, M., Marycz, K., & Cywińska, A*. (2024). The effect of long term astaxanthin supplementation on the antioxidant status of racing Arabian horses – preliminary study. *Scientific Reports*, 14, Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-77732-9>. **IF=3,9; 140 pkt MNiSW**
3. **Giercuskiewicz-Hecold, B.**, Kulka, M., Czopowicz, M., Szarska, E., Strzelec, K., Grzeczka, A., Graczyk, S., Wiśniewska, M., Jędrzejkowska, Z., Rumińska, A., Marycz, K., & Cywińska, A*. (2024). Astaxanthin Supplementation Does Not Alter Training Related Changes in

Inflammatory Cytokine Profile in Arabian Racing Horses. Antioxidants, 13, Article 8. <https://doi.org/10.3390/antiox13080905>. IF=6,6; 100 pkt MNiSW

Suma IF: 14,4; Suma punktów MNiSW: 380

Zawartość merytoryczna publikacji przedstawionych jako rozprawa doktorska jest zgodna z tytułem pracy doktorskiej, w związku z czym rozprawa doktorska spełnia formalny warunek polegający na spójności tematycznej prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.

Należy zaznaczyć, że publikacje zostały wydrukowane w bardzo dobrych czasopismach o wysokim wskaźniku IF i wysokiej punktacji MNiSW. Łączny IF prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi 14,4, a łączna liczba punktów MNiSW wynosi 380.

Informacja zamieszczona w manuskrypcie rozprawy doktorskiej jak i dołączona do dokumentacji elektronicznej przesłanej razem z egzemplarzem rozprawy doktorskiej (oświadczenia współautorów publikacji) wyraźnie wskazuje, że Doktorantka odegrała wiodącą rolę w zaplanowaniu i przeprowadzeniu badań oraz opracowaniu wyników i przygotowaniu manuskryptów prac, chociaż w wielu przypadkach dołącza się oświadczenia współautorów publikacji.

Rozprawa doktorska składa się z dwóch głównych części: polskojęzycznej części zawierającej formalne elementy rozprawy doktorskiej, w której omówione zostały szeroko zagadnienia związane z pracą doktorską oraz części zawierającej teksty publikacji w języku angielskim, będących podstawą ocenianej rozprawy.

Część polskojęzyczna składa się ze Spisu treści, Streszczenia (również w języku angielskim), wykazu prac oryginalnych stanowiących podstawę opracowania, spisu skrótów, Wprowadzenia, gdzie Doktorantka omawia zagadnienia będące przedmiotem badań, dotyczące astaksantyny, znaczenia stresu oksydacyjnego w treningu sportowym, oraz treningu koni sportowych czystej krwi arabskiej, omówienia publikacji składających się na dysertację, dobrze sformułowanych Celów badań, sekcji Materiały i Metody, oraz omówienia wyników badań i ich dyskusji, oraz Spisu literatury.

Wstęp jest bardzo obszerny i wyczerpująco przedstawia zagadnienia będące przedmiotem zainteresowania Doktorantki. Doktorantka wprowadza czytelnika w zagadnienia związane z biologią sportowych koni czystej krwi arabskiej, patofizjologię ich treningu i znaczenie w tym zakresie stresu oksydacyjnego, oraz przedstawia stosowaną w badaniach astaksantynę na tle innych substancji wykorzystywanych jako antyoksydanty. Obszerny spis literatury liczy 143 pozycje. Należy zaznaczyć, że literatura jest starannie i właściwie dobrana, a zdecydowana większość cytowanych publikacji pochodzi już z nowego Millenium.

Ocena rozprawy doktorskiej opartej o opublikowane, szczególnie w dobrych czasopismach naukowych, artykuły jest zawsze trudniejsza niż ocena niepublikowanej monografii. Artykuły wchodzące w skład niniejszej rozprawy zostały poddane wnikliwej i krytycznej ocenie recenzentów zarówno co do znaczenia tematyki badawczej, wykorzystanej metodologii badań jak i uzyskanych wyników. Jeśli nawet zostaną w nich znalezione jakieś mankamenty, to ich poprawienie jest już, z reguły, niemożliwe. Recenzentowi takiej rozprawy doktorskiej

pozostaje zaakceptować przedstawione publikacje i wypowiedzieć się tylko o całościach badań Doktorantki.

Przeprowadzone badania miały na celu określenie wpływu astaksantyny, silnego wymiatacza wolnych rodników, na parametry stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego u trenujących wyczynowo koni arabskich. Astaksantyna jest silnym antyoksydantem produkowanym, m. in. przez niektóre drożdże, wykazującym aktywność 10-100 razy większą niż karoten, czy tokoferol. Z tego też powodu wiąże się z tą substancją duże nadzieje na wsparcie organizmu zagrożonego stresem oksydacyjnym. Jednym ze stanów (pato)fizjologicznych związanych z nasileniem stresu oksydacyjnego jest intensywny wysiłek fizyczny, gdzie mięśnie szkieletowe (czy to na drodze tlenowej, czy beztlenowej) muszą wygenerować ogromne ilości energii. Stres oksydacyjny jest równocześnie ściśle, dwukierunkowo, związany z procesami zapalnymi. Dokonując wielkiego uogólnienia, można stwierdzić, że stres oksydacyjny indukuje stan zapalny, zaś w stanie zapalnym spotykamy się z procesami generującymi stres oksydacyjny. Przy czym, na co Doktorantka wyraźnie zwróciła uwagę w swojej Dysertacji, nie należy stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego trenującego zwierzęcia oceniać jednoznacznie negatywnie, gdyż oba są konieczne do uzyskania stanu adaptacji i zwiększonej wydolności organizmu, a przecież takie oczekiwania wiąże się z treningiem sportowym ludzi i zwierząt.

Szczegółowy celami badań były:

- 1) Ocena in vitro wpływu astaksantyny na wartości parametrów charakteryzujących stres oksydacyjny, wydzielanie cytokin prozapalnych i stan mitochondriów w PBMC izolowanych od koni arabskich rozpoczynających trening do wyścigów płaskich.
- 2) Ocena wpływu podawania astaksantyny na parametry charakteryzujące status oksydacyjny u koni arabskich rozpoczynających trening do wyścigów płaskich.
 - 1) A. Ocena wpływu podawania astaksantyny na zmiany parametrów statusu oksydacyjnego po sesji treningowej o wysokiej intensywności.
 - 2) B. Ocena wpływu podawania astaksantyny na parametry statusu oksydacyjnego podczas pierwszych miesięcy treningu.
- 3) Ocena zmian w profilu cytokin zapalnych związanych z treningiem u młodych koni wyścigowych czystej krwi arabskiej w trakcie suplementacji astaksantyną podczas pierwszych miesięcy treningu.
- 4) Ocena znaczenia suplementacji astaksantyną dla wyników osiągniętych w gonitwach przez konie arabskie w pierwszym roku startów.

Badania przeprowadzono na 14 koniach czystej krwi arabskiej (9 ogierów i 5 klaczy) rozpoczynających pierwszy sezon wyścigowy na Torze Wyścigów Konnych na Służewcu (Warszawa) pod okiem jednego trenera. Doktorantka zwróciła uwagę, że wybór koni trenujących pod okiem jednego trenera był konieczny dla zachowania identycznych/zbliżonych parametrów treningu. Konie były losowo przydzielone do grupy kontrolnej (8 zwierząt) i badanej (6 zwierząt). Zwierzęta z grupy badanej otrzymywały preparat astaksantyny w ilości 250 mg. Krew pobierano do badań hematologicznych, do analizy cytokin, enzymów antyoksydacyjnych i izolacji komórek mononuklearnych. Krew pobierano od kwietnia do lipca, w 5-tygodniowych odstępach. W każdym przypadku krew pobierano przed

treningiem, a potem w ściśle ustalonych momentach treningu i w okresie odpoczynku. Taki wybór sposobu zbierania próbek jest jak najbardziej uzasadniony celem i metodyką badań.

Przeprowadzono rutynową analizę hematologiczną próbek krwi, w tym wykonano manualne rozmazy krwi, wraz z ich oceną. Na izolowanych z krwi koni z grupy kontrolnej i badanej komórkach mononuklearnych badano efekt stresu oksydacyjnego wywołanego nadtlenkiem wodoru na wydzielanie cytokin prozapalnych (IL-1B, IL-6, TNFalfa i IFNgamma) i ekspresję genów związanych ze stresem oksydacyjnym (SOD-1, SOD-2, NRF-1, NRF-2, CAT i Gpx) oraz aktywnością mitochondriów, w tym ze zjawiskiem mitofagii (PINK1, PARIN, MIEF1, PIGBOS, PPARGC1A, PPARGC1B i NDUF). W pobranych próbkach krwi oceniano powszechnie przyjęte parametry charakteryzujące poziom stresu oksydacyjnego (TAS, GR, GPx, CAT i SOD). W pobranych od koni próbkach krwi oceniano również poziom wybranych cytokin pro- i przeciwzapalnych (IL-6, TNFalfa, IFNgamma i IL-10) oraz prostaglandyny E w celu określenia poziomu nasilenia stanu zapalnego w organizmie. Jako ostatni cel badawczy Doktorantka próbowała odnaleźć korelację pomiędzy suplementacją astaksantyną a wynikami, które badane konie osiągały w gonitwach.

Przeprowadzone badania Doktorantka przedstawiła w trzech, wymienionych wcześniej, publikacjach, z których każda jest logicznie zamkniętą całością, wyodrębnioną logicznie, przedstawiającą korespondujący fragment pracy badawczej. Każda praca zawiera świetnie opracowany wstęp, drobiazgowo opisaną metodykę przeprowadzonych badań, opis i omówienie wyników. Należy podkreślić również, że wszystkie prace wchodzące w skład pracy doktorskiej są pracami obszernymi, których lektura utwierdza Recenzenta w przeświadczeniu o wysokich umiejętnościach Doktorantki.

Publikacje w czasopiśmie naukowych ograniczone są co do swojej objętości, a sekwencyjny sposób publikowania (jedyne możliwe) powoduje, że Doktorantka nie zawsze mogła się odnosić w publikacjach do innych uzyskanych przez siebie wyników. Dopiero na etapie podsumowania w dysertacji, możliwe było podejście kompleksowe, dające pełny obraz znaczenia badań i osiągniętych rezultatów. Ilustruje to, kwestionowany przez niektórych, zwyczaj opracowania takiego obszernego podsumowania badań jako elementu dysertacji. I, co prawda, zwraca się uwagę, że takie podsumowanie nie może być obiektem recenzji, to jednak recenzenci powinni zwracać uwagę na napotkane w tej części błędy i nieścisłości. Tu, na szczęście, recenzent takich niedociągnięć nie zauważył.

Należy zauważyć, że Doktorantka świetnie dobrała metody i techniki badawcze do interesujących ją problemów. Można zauważyć również, że (z drugiej strony) nie wyszła poza kanon powszechnie uznanych metod, jednak praca doktorska powinna być oparta o metodologię nie związaną z dużym ryzykiem niepowodzenia, szczególnie w przypadku ograniczeń czasowych związanych ze studiami doktoranckimi w Szkole Doktorskiej. Niemniej, Doktorantce należą się słowa uznania za świetne operowanie szeroką gamą technik badawczych na międzynarodowym poziomie.

Podsumowując wyniki uzyskane przez Doktorantkę można stwierdzić, że parametry hematologiczne u badanych koni (WBC, RBC, HCT, HGB) były w normie i nie różniły się

istotnie między grupami. Po sesji treningowej zaobserwowano wzrost parametrów czerwonokrwinkowych oraz stężenia kwasu mlekowego, który był istotny statystycznie.

Zmierzając do podsumowania wyników uzyskanych w badaniach stresu oksydacyjnego należy zaznaczyć, że Doktorantka była zainteresowana nie tylko rolą dobrze znanych Reaktywnych Form Tlenu (ROS), ale, co nie jest takie powszechne, zainteresowała się inną grupą, często pomijanych, cząsteczek nazywanych Reaktywnymi Formami Azotu (RNS) i uzyskała tutaj bardzo interesujące i zaskakujące rezultaty.

W badaniach *in vitro* stwierdzono, iż stres oksydacyjny wywołany nadtlaniem wodoru powodował zwiększoną produkcję ROS w PBMC, a astaksantyna częściowo przywracała fenotyp kontrolny, choć bez istotności statystycznej. Zaskakujący był fakt, że astaksantyna wpłynęła stymulująco na produkcję reaktywnych form azotu (RNS). Ekspresja genów związanych z układem antyoksydacyjnym nie wzrosła w obecności nadtlenu wodoru, ale ekspresja NRF1, SOD2 i GPx zwiększyła się pod wpływem astaksantyny. Inkubacja z nadtlaniem wodoru podnosiła stężenie prozapalnych cytokin, które z kolei obniżała obecność astaksantyny.

W badaniach *in vivo* Doktorantka stwierdziła, że długoterminowa suplementacja antaksantyną zwiększenie poziom całkowitej zdolności antyoksydacyjnej (TAS) i spadek aktywności GR oraz wartości TBARS w grupie badanej. W trakcie sesji treningowej Doktorantka stwierdziła wyższe wartości TAS w grupie badanej, niższą aktywność GR i GPx w porównaniu z grupą kontrolną, oraz stabilność wartości TBARS.

Wyniki uzyskane przez Doktorantkę wykazały brak istotnych różnic w stężeniach TNF α , IFN γ , IL-6, IL-10 między grupami, z istotnym spadkiem TNF α i IFN γ w kolejnych punktach czasowych.

Doktorantka nie zaobserwowała istotnych różnic w liczbie ukończonych wyścigów ani zwycięstw między grupą badaną a kontrolną.

Podsumowując wyniki uzyskane przez Doktorantkę można stwierdzić, że suplementacja astaksantyną wykazała potencjalny wpływ na parametry zdrowotne i antyoksydacyjne koni, ale nie wpłynęła istotnie na wyniki sportowe.

Doktorantka wyciągnęła z wyników przeprowadzonych badań pięć dobrze sformułowanych wniosków:

1. Astaksantyna w hodowli izolowanych od koni arabskich PBMC, poddanych *in vitro* stresowi oksydacyjnemu wywiera efekt antyoksydacyjny poprzez ograniczenie produkcji reaktywnych form tlenu, zwiększenie ekspresji genów enzymów antyoksydacyjnych i związanych z procesem oddychania komórkowego (SOD1, NRF1, SOD2, CAT, NRF2, GPx) oraz zmniejszenie uwalnianie cytokin prozapalnych (IL-1 β , IL-6, TNF α , IFN γ) przez PBMC.
2. Doustna suplementacja astaksantyną u młodych koni arabskich działa ochronnie poprzez pobudzenie ekspresji genów odpowiedzialnych za regulację dynamiki mitochondrialnej (MIEF1, PIGBOS, NDUFA9, PPARGC1B, MRPL24, PULS1, TFAM, OXA1L, UQCRC2) i mitofagię (PINK1 i PARKIN).

3. Doustna suplementacja astaksantyną u młodych koni arabskich rozpoczynających trening wyścigowy stanowi skuteczne wsparcie nieenzymatycznej obrony antyoksydacyjnej. Już po miesiącu suplementacji łagodzi skutki stresu oksydacyjnego związanego z treningiem nie zaburzając przy tym wpływu produkcji wolnych rodników na adaptację do wysiłku i postępy treningowe.
4. W początkowym etapie treningu wyścigowego u młodych koni arabskich odpowiedź zapalna jest hamowana, co potwierdza spadek stężenia TNF α we krwi już po pierwszym miesiącu treningu, stopniowe zmniejszanie się stężenia IFN γ w ciągu 3 miesięcy oraz dodatnia korelacja pomiędzy stężeniami IL-6 i IL-10 obserwowana jest już po miesiącu treningu.
5. Suplementacja astaksantyną u młodych koni arabskich nie zmienia modulacji odpowiedzi zapalnej w przebiegu prawidłowego treningu.

Odnosząc się do przeprowadzonych przez Doktorantkę badań należy zauważyć, że układowi doświadczalnemu brak pewnej ortogonalności. Doktorantka nie wyjaśnia, na przykład, dlaczego w badaniach in vitro lista badanych cytokin obejmowała IL-1B, a nie obejmowała przeciwzapalnej IL-10, zaś w próbkach krwi badano IL-10, a nie badano IL-1B. Podobnie, w hodowanych komórkach badano ekspresję GPx, ale nie ekspresję GR, zaś w próbkach krwi badano aktywność obydwu enzymów. Takie wyjaśnienie chyba by się przydało w polskojęzycznym podsumowaniu dysertacji. Jest to jednak bardzo drobne zastrzeżenie.

Gratulując Doktorantce wykonanej pracy, należy jednak mieć na uwadze, że astaksantyna była i jest badana w kontekście wpływu na stres oksydacyjny, ale nadal brak jest w 100% konkluzyjnych wyników co do zalet jej stosowania.

Pomimo bardzo drobnych zastrzeżeń co do badań przeprowadzonych przez Doktorantkę, uważam, że przedstawiony do oceny cykl prac stanowiących owoc badań Doktorantki nad możliwością modulowania stresu oksydacyjnego i natężenia stanu zapalnego u trenujących koni stanowi bardzo znaczący wkład w badania nad doskonaleniem metod wspomagania zdrowia i wydolności trenujących zwierząt w sporcie. Mam tylko nadzieję, że badania takie nie dostarczą wyników przekraczających barierę, za którą suplementami zaczną interesować się władze antydopingowe.

Podsumowując, stwierdzam, że oceniana praca doktorska spełnia wymogi określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.) i w pełni uzasadnia ubieganie się o stopień naukowy doktora. Przedstawiam zatem jej pozytywną ocenę i wnoszę do Rady Dyscypliny Weterynarii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie lek. wet. Beaty Giercuskiewicz-Hecold do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora.

Jednocześnie, zwracam się do Rady Dyscypliny Weterynarii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o wyróżnienie rozprawy stosowną nagrodą. Uważam, że mnogość zastosowanych, nowoczesnych technik badawczych, ogrom pracy włożonej przez Doktorantkę i fakt opublikowania wyników w bardzo dobrych czasopiśmiech uzasadniają ten wniosek.

KIEROWNIK KATEDRY
Krzysztof Wąsowski
prof. dr hab. Krzysztof Wąsowski