Kraków, 05.11.2026 r.

Prof. dr hab. Dorota Wojtysiak
Katedra Genetyki, Hodowli i Etologii Zwierząt
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. wet. Cezarego Osiak-Wicha pt. „Egzogenna iryzyna jako modulator rozwoju układu mięśniowo-szkieletowego w okresie dojrzewania".

Praca doktorska Pana lek. wet. Cezarego Osiak-Wicha została wykonana w Katedrze Anatomii i Histologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Marcina B. Arciszewskiego oraz Pana dr hab. Siemowita Muszyńskiego, prof. Uczelni.

Podstawą formalną wykonania recenzji jest uchwała Rady Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie nr RD Wet. 19/2006 z dnia 24. września 2026 roku.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska Pana lek. wet. Cezarego Osiak-Wicha stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego dotyczącego wpływu egzogennej iryzyny na mikrostrukturę mięśni oraz parametry morfometryczne, mechaniczne, gęstość mineralną oraz mikroarchitekturę kości w okresie dojrzewania szczurów.

Wzrost i rozwój organizmu kształtowany jest przez wiele czynników - zarówno genetycznych, jak i środowiskowych. Ważną rolę w okresie dojrzewania odgrywają także cząsteczki sygnalizacyjne produkowane przez mięśnie szkieletowe. Mięśnie szkieletowe to nie tylko podstawowy element aparatu ruchu, to także narząd endokrynny. Produkowane przez mięśnie miokiny stanowią kluczową rolę w komunikacji mięśniowej. Wpływają także na metabolizm, odporność i homeostazę całego organizmu, w tym również na układ kostny. Wiele wskazuje na to, że zróżnicowanie strukturalne mięśni, wynikające głównie z różnic w metabolizmie i funkcji różnych typów włókien mięśniowych, ma istotny wpływ na rodzaj i ilość wydzielanych miokin, co w konsekwencji przekłada się na specyfikę ich działania biologicznego. Tym samym podjęcie badań dotyczących efektów działania egzogennej iryzyny jako modulatora rozwoju kości i mięśni – różniących się pochodzeniem, budową anatomiczną oraz funkcją biomechaniczną – należy uznać za w pełni uzasadnione. Projekt ten niesie za sobą wysoki potencjał nie tylko naukowy i poznawczy, ale również potencjalnie aplikacyjny.

Przedstawione do oceny opracowanie liczy 123 strony. Układ pracy i podział treści jest typowy dla tego typu dysertacji i z formalnego punktu widzenia nie budzi zastrzeżeń. Obejmuje: Spis treści, Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wykaz skrótów, Wstęp, Hipotezy i cele badawcze, Materiały i metody, Wyniki, Dyskusję, Wnioski i Piśmiennictwo. Praca napisane jest poprawnym stylistycznie językiem w sposób zrozumiały i staranny. Tytuł rozprawy odzwierciedla zagadnienia poruszane w opracowaniu.

Na początku dysertacji umieszczono „Spis treści" oraz „Streszczenie" w języku polskim i angielskim, które w dobry sposób oddaje cel pracy, najważniejsze fakty metodologiczne i co najważniejsze osiągnięte przez Doktoranta efekty badań. Umieszczony w dalszej kolejności „Wykaz skrótów" stosowanych w pracy ułatwia niewątpliwie zapoznanie się z treścią pracy. „Wstęp" z kolei, wprowadza czytelnika w podejmowaną tematykę badawczą. Takie przedstawienie zagadnień w tym rozdziale uważam za w pełni przemyślane, dojrzałe i dające możliwość właściwego wprowadzenia i zapoznania z podjętą w pracy tematyką badawczą. Obszernie cytowane i dobrze dobrane piśmiennictwo świadczy o bardzo dobrej znajomości zagadnień, których dotyczy oceniana dysertacja doktorska. Doktorant w dużej mierze cytuje najnowsze, najbardziej aktualne piśmiennictwo z tego zakresu.

W kolejnym rozdziale Doktorant przedstawił Hipotezy i cele badawcze. Hipotezy badawcze pracy sformułowane są rzeczowo i przedstawiają w zwięzłej formie założenia, które Doktorant zamierza zweryfikować na podstawie przeprowadzonych analiz, testów laboratoryjnych i badań na zwierzętach. W celu zweryfikowania hipotez badawczych Doktorant wyodrębnił pięć podstawowych kierunków badań realizujących cele szczegółowe dysertacji, takie jak:

1. Ocena wpływu egzogennej iryzyny na morfologię włókien mięśniowych w mięśniu żwaczu, mięśniu brzuchatym łydki oraz mięśniu podłużnym górnym języka, z uwzględnieniem średnicy włókien, gęstości profili włókien na jednostkę powierzchni pęczka oraz udziału poszczególnych typów włókien.
2. Ocena wpływu egzogennej iryzyny na mineralizację i mikroarchitekturę żuchwy, kości udowej oraz kręgów z zastosowaniem metod obrazowych i histomorfometrycznych.
3. Ocena wpływu egzogennej iryzyny na dynamiczne wskaźniki formowania kości w wybranych regionach kości korowej i beleczkowej żuchwy oraz kości udowej na podstawie podwójnego znakowania kalceiną.
4. Ocena wpływu egzogennej iryzyny na właściwości strukturalne, geometryczne i pozorne właściwości materiałowe żuchwy oraz kości udowej z wykorzystaniem trójpunktowego testu zginania i parametrów geometrycznych uzyskanych z analizy micro-CT.
5. Porównawcza interpretacja wyników uzyskanych dla badanych mięśni i kości w celu określenia czy działanie egzogennej iryzyny ma charakter zbliżony w różnych elementach układu mięśniowo-szkieletowego, czy zależy od lokalizacji anatomicznej, budowy tkankowej i funkcji biomechanicznej analizowanej struktury.

Do osiągnięcia zamierzonych celów Doktorant przeprowadził badania na 64 (32 samcach i 32 samicach) szczurach wędrownych (*Rattus norvegicus*) szczepu Wistar w wieku trzech tygodni. Po trzydniowym okresie adaptacji do warunków otoczenia, szczury losowo przydzielono do dwóch grup: kontrolnej otrzymującej dootrzewnowo nośnik, a mianowicie 100 µl 0,9% jałowego roztworu NaCl (KON; n = 16 samców i 16 samic) oraz grupy otrzymującej egzogenną iryzynę w dawce 100 µg/ kg masy ciała (IRY; n = 16 samców i 16 samic). Doświadczenie obejmowało okres od 3. do 7. tygodnia życia. Schemat doświadczenia przedstawiono dodatkowo na rycinie 1. Nie uwzględnia on jednak trzech dni adaptacji zwierząt do warunków otoczenia. Może lepiej na schemacie zaznaczyć konkretne dni życia zwierząt, w których rozpoczęły się poszczególne etapy doświadczenia.

Rozdział „Materiały i metody", Doktorant przedstawiła na 26 stronach maszynopisu. Zredagowano go z dużą dbałością o szczegóły przeprowadzonych eksperymentów. W sposób przejrzysty przedstawiono metodologię analizy kości żuchwy, kości udowej oraz piątego kręgu lędźwiowego. W przypadku kości analizowano parametry morfometryczne, gęstość mineralną oraz

parametry mikroarchitektury kości. Przeprowadzono także ocenę linii kalceinowych oraz analizę mechaniczną kości. Z kolei, w analizie mięśni: żwacza, brzuchatego łydki oraz podłużnego górnego języka, na podstawie reakcji histo- i immunohistochemicznej - różnicującej trzy typu włókien mięśniowych - oceniano kompozycję włókien mięśniowych tj. średnicę, udział procentowy poszczególnych typów włókien mięśniowych oraz liczbę włókien na jednostkę powierzchni. Dodatkowo w celu oceny integralności sarkolemmy włókien mięśniowych wykonano reakcję immunofluorescencyjną na obecność dystrofiny. Doświadczenie przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi zasadami prowadzenia badań na zwierzętach - o czy świadczy zgoda Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Lublinie, a uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej.

Z obowiązku recenzenta nie mogę nie zwrócić uwagi na pewne elementy metodyki, których w moim odczuciu brakowało w tym rozdziale. Mam tutaj kilka pytań:

- Z uwagi na fakt, że na parametry kości, a także kompozycję włókien mięśniowych (wielkość i udział procentowy poszczególnych typów włókien mięśniowych) wpływa wiele czynników, zarówno genetycznych, jak i środowiskowych, bardzo istotne jest przedstawienie wszystkich aspektów, które mogą o nich decydować – w tym informacji o ewentualnym pokrewieństwie zwierząt.

- Druga uwaga dotyczy pomiarów liniowych (rozdział 6.3.2., str. 33) oraz pomiarów masy kości (rozdział 6.3.4., str. 38) – pytanie: czym wykonywano te pomiary i z jaką dokładnością?

- W przypadku analizy szybkości apozycji mineralnej (MAR) (str. 40) Doktorant podaje, że cyt. „Dla każdego ROI wykonywano serię pomiarów w reprezentatywnych punktach ..." Pytanie – seria to ile pomiarów?

- Str. 43 nie podano typu i producenta kriostatu (str. 43).

- Pewnego doprecyzowania w tym rozdziale wymaga także metodyka przedstawiająca immunofluorescencyjne wykrywanie dystrofiny (rozdział 6.4.4.). Zabrakło mi tutaj takich elementów opisu procedury, jak np. wyjaśnienia, czy preparaty były utrwalane, a jeśli tak, to czym? Jaki środek (surowicę) blokujący stosowano w celu zapobiegania niespecyficznemu wiązaniu przeciwciał? Czy stosowano detergenty molekularne jak TritonX, czy Tween20?

- Kolejna uwaga dotyczy analizowanego obszaru mięśnia podłużnego górnego języka, a tak dokładnie braku konkretnej lokalizacji tego obszaru. Na str. 43 Autor podaje cyt. „W przypadku języka cięciu poddawano cały narząd, natomiast do dalszych analiz wybierano obszar odpowiadający mięśniowi podłużnemu górnemu." Mięsień podłużny górny języka przebiega od wierzchołka przez trzon do korzenia języka, dlatego ważne jest precyzyjne określenie obszaru analizy. Jest to oczywiście uchybienie marginalne, ale jednak warto podawać takie dane choćby z uwagi na powtarzalność badań.

Rozdział „Materiały i metody" uzupełniają także ryciny z poszczególnych analiz kości i mięśni. Ryciny są czytelne i dobrej jakości, jednak nie wiadomo, czy są to reprezentatywne ryciny osobników z grupy KON czy grupy IRY, samców czy samic. Może lepiej byłoby zamieścić ryciny dla analizowanych poszczególnych grup zwierząt w rozdziale „Wyniki". Ponadto w przypadku analizy histo- i immunohistochemicznej warto dołączyć zdjęcia kontroli ujemnej, która dodatkowo potwierdza prawidłowość wykonanych reakcji – a taką reakcję Doktorant wykonał (str. 45).

Powyższe uwagi mają jedynie na celu doprecyzowanie metodyki badań i nie umniejszają wartości merytorycznej ocenianej części dysertacji. Pragnę natomiast w tym miejscu szczególnie

podkreślić szeroki zakres prowadzonych oznaczeń, pomiarów oraz analiz, co zasługuje na duże uznanie. Dodatkową zaletą dysertacji jest materiał badawczy, który uwzględnia struktury o odmiennym pochodzeniu, budowie anatomicznej i funkcji biomechanicznej. Co ważne, wszystkie przeprowadzone analizy uwzględniają jeszcze jeden aspekt - a mianowicie efekt płci.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione i udokumentowane bardzo rzetelnie w formie 15 rycin oraz w formie zwartego komentarza słownego na 29. stronach maszynopisu w rozdziale „Wyniki". Zawarte tu dane są w pełni zgodne z założoną hipotezą badawczą, materiałem i metodami przyjętymi w niniejszej dysertacji doktorskiej. Przedstawione wyniki są ciekawe i jednocześnie inspirują do dalszych badań. Mają także swoją wartość poznawczą i wartość praktyczną. Na pochwałę zasługuje forma prezentowania wyników. Ryciny są przejrzyste i czytelne, zredagowane z dużą starannością. Doktorant dokonał prawidłowej i wyczerpującej oceny uzyskanych wyników, nie ustrzegł się jednak drobnych potknięć:

Rozdział 7.2.7. Własności strukturalne i geometryczne kości udowej (str. 67) – ostatni akapit - w przypadku Ix (osiowego momentu bezwładności) Doktorant podaje, że cyt. „W grupie KON Ix był większy u samców niż u samic (p = 0.001), natomiast w grupie IRY nie stwierdzono istotnej różnicy między płciami (Ryc. 15F)". Podczas gdy na Ryc. 15F przedstawione zależności są dokładnie odwrotne tj. w grupie KON nie ma istotnych statystycznie różnic między samcami i samicami, natomiast w grupie IRY istotnie wyższe wartości tego parametru wykazano u samców w porównaniu z samicami (p = 0,001).

Rozdział 7.2.10. Dynamiczna morfometria kości udowej (str. 73) - Doktorant stwierdza cyt. „W porównaniu między płciami MS/MB był większy u samców niż u samic zarówno w grupie KON, jak i w grupie IRY ..." gdy tymczasem zgodnie z Ryc. 18E istotne różnice między płciami dotyczyły tylko grupy IRY.

Rozdział 7.3.2. Mięsień żwacz (str. 77) – trzeci akapit dotyczący średnicy włókien mięśniowych typu I, IIa i IIb – brakuje porównania między płciami w grupie KON i IRY. Zgodnie z Ryc. 20B - D, w grupie IRY średnice wszystkich trzech analizowanych typów włókien mięśniowych były istotnie statystycznie większe u samców w porównaniu z samicami, w grupie KON natomiast różnice były nieistotne statystycznie. Podobnie, w przypadku udziału procentowego włókien typu IIb brakuje porównania między samcami i samicami grupy KON– gdzie zgodnie z Ryc. 20G mięsień żwacz samic charakteryzował się większym udziałem procentowym włókien typu IIb w porównaniu z samcami (p = 0,041).

Rozdział 7.3.3. Mięsień brzuchaty łydki (str. 79) czwarty akapit – brakuje porównania pomiędzy płciami dla włókien typu I, gdzie zgodnie z Ryc. 21E w grupie IRY większy udział procentowy włókien typu I stwierdzono u samic w porównaniu z samcami (p = 0,003).

Rozdział 7.3.4. Język (mięsień podłużny górny) (str. 81) – piąty akapit, 6 linia cyt. „Różnice między płciami dla tego typu włókien również osiągnęły poziom $p < 0.001$ (Ryc. 20F)" – pytanie: jakie to były różnice? Zgodnie z Ryc. 22F, zarówno w grupie KON jak i IRY, udział procentowy włókien IIa był mniejszy u samców niż u samic.

Kolejny rozdział dysertacji a mianowicie „Dyskusja", liczący 17 stron maszynopisu, oparty jest na rozległej znajomości podjętej tematyki badawczej. Logiczność prowadzonych wywodów nie budzi zastrzeżeń. Dyskusja jest merytoryczna, konkretna, logicznie przeprowadzona i dobrze

udokumentowana cytowanymi źródłami. O aktualności zagadnień poruszanych w dyskusji świadczy również fakt, że większość cytowanych publikacji ukazało się po 2016 roku. W mojej opinii jest to najmocniejsza strona dysertacji. Autor nie tylko porównuje własne wyniki z danymi przedstawionymi przez innych badaczy, lecz także podejmuje próbę wyjaśnienia mechanizmów wpływających na obserwowane zmiany. Doktorant wykazał się również umiejętnością krytycznej interpretacji uzyskanych wyników, co świadczy o jego dojrzałości naukowej.

Ważnym rozdziałem wieńczącym pracę jest rozdział „Wnioski", w którym Doktorant zawarł 4. wnioski stanowiące podsumowaniem kolejnych etapów badań. Ich treść jest uzasadniona wynikami badań i w pełni odpowiada na postawione w celu dysertacji pytania.

Zagadnienia poruszane w rozprawie doktorskiej zostały poparte licznym i właściwie dobranym piśmiennictwem świadczącym o dobrym merytorycznym przygotowaniu Doktoranta. Rozdział „Piśmiennictwo" liczy 22 strony i zawiera 164 pozycji literatury, z czego przeważająca większość to prace i artykuły aktualne z ostatnich 10 lat.

Analiza dysertacji nasunęła mi jeszcze kilka pytań, które mam nadzieję przyczynią się do pogłębienia interpretacji uzyskanych wyników.

1. Jakie czynniki mogą wyjaśniać zróżnicowaną, zależną od lokalizacji anatomicznej odpowiedź rozwijających się mięśni i kości na podawanie egzogennej iryzyny?
2. Czy uzyskane wyniki pozwalają na sformułowanie hipotez dotyczących oddziaływania endokrynnej iryzyny na układ mięśniowo-szkieletowy w okresie dojrzewania?
3. Które z uzyskanych wyników Doktorant uznaje za najistotniejsze i w jaki sposób mogą one zostać wykorzystane w praktyce?

Pozostałe drobne uwagi edytorskie:

- Symbol poziom istotności testu '*p*' piszemy kursywą. - rozdział 7.3.2. Mięsień żwacz (str. 77) – pierwszy akapit. Rozdział 7.3.3. Mięsień brzuchaty łydki (str. 79) – pierwszy akapit. Rozdział 7.3.4. Język (mięsień podłużny górny) (str. 81) – pierwszy akapit

- W całym rozdziale 'Wyniki' Doktorant zamiast separatora dziesiętnego, jakim w języku polskim jest przecinek, używa kropek.

- Str. 14 ostatnia linia ' W zwierzętach' zmienić na „U zwierząt"

- Str. 15 – ostatni akapit, linia 4 - określenie 'kończyny dolne' – jest to oczywiście poprawne określenie w przypadku anatomii człowieka, natomiast u zwierząt lepiej stosować określenie kończyny miedniczne ew. kończyny tylne.

- Str. 16 drugi akapit, linia 5 - brakuje daty przy cytacji Estell i in.

- Str. 17 ostatnie zdanie - O ile określenie 'profil oksydacyjny jest prawidłowy' to określenie 'wolny' odnosi się do szybkości skurczu, a nie profilu.

- Str. 20 pierwszy akapit, linia 6-7 - cyt. '... część powierzchowna dominuje we włókna szybkokurczliwe...' – należy przeredagować np. 'w części powierzchownej dominują włókna szybkokurczliwe' lub 'w części powierzchownej przeważają włókna szybkokurczliwe', ewentualnie 'część powierzchowna jest zdominowana przez włókna szybkokurczliwe'.

- Str. 28 drugi akapit, linia 12 - 'in vivo' powinno być napisane kursywą

- Str. 31 linia 4 - 'zzachowaniem' – powinno być 'z zachowaniem'

- Str. 31 ostatnia linia – skrót (BMD) użyty po raz pierwszy powinien być wyjaśniony.

- Str. 97 powtórzenie zdania „Bardziej prawdopodobne jest więc ilościowe rozrzedzenie sieci beleczkowej niż zasadnicza zmiana jej globalnej organizacji geometrycznej."

W podsumowaniu pragnę podkreślić, że osiągnięcie badawcze Doktoranta oceniam wysoko, zarówno ze względu na bardzo szeroki i nowatorski zakres badań, zastosowane metody, jak i znaczącą wartość wyników pracy dla nauki. Moim zdaniem badania, które przeprowadził Pan lek. wet. Cezary Osiak-Wicha są bardzo inspirujące i znacząco poszerzają wiedzę dotyczącą wpływu miokin na rozwój układu mięśniowo-kostnego. Doktorant dowiódł też, że posiada umiejętności planowania i prowadzenia badań naukowych, dobierania właściwych metod badawczych oraz dokonania prawidłowej analizy wyników.

Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę celowość i aktualność podjętych badań, zakres ich realizacji, formę prezentacji oraz interpretację uzyskanych wyników stwierdzam, że wnoszą one nowe wartości poznawcze i mogą mieć ważny aspekt praktyczny. Zrozumienie mechanizmów działania miokin może potencjalnie przyczynić się do opracowania nowych strategii terapeutycznych w medycynie weterynaryjnej. Przedstawione w niniejszej recenzji uwagi i spostrzeżenia mają charakter pomocniczy, nie umniejszają wartości merytorycznej pracy i nie mają większego wpływu na ostateczną jej ocenę. Wobec tego z pełnym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana lek. wet. Cezarego Osiak-Wicha 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 wnioskuję do Rady Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o dopuszczenie Pana lek. wet. Cezarego Osiak-Wicha do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk weterynaryjnych w dyscyplinie weterynaria.

Jednocześnie biorąc pod uwagę rangę rozwiązywanego problemu naukowego, szczególne walory poznawcze, szeroki zakres badań, a także wysoki poziom naukowy przedstawionej dysertacji, wnoszę do Wysokiej Rady Dyscypliny Naukowej Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana lek. wet. Cezarego Osiak-Wicha pt. „Egzogenna iryzyna jako modulator rozwoju układu mięśniowo-szkieletowego w okresie dojrzewania".

Donata Wojtysiak