

Prof. dr hab. Edyta Suliga
Zakład Żywienia i Dietetyki
Instytut Nauk o Zdrowiu
Collegium Medicum
Uniwersytet Jana Kochanowskiego
w Kielcach

Kielce, dn. 3 listopada 2025 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej na stopień doktora
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauk o kulturze fizycznej
mgr Norberta Grzelaka

Neurotrofiny to czynniki wzrostu, których nadrzędną rolą jest udział w procesach neurogenezy, takich jak różnicowanie, dojrzewanie i przeżywalność neuronów, wzrost aksonów, rozgałęzień dendrytycznych i tworzenie synaps. Czynniki neurotroficzne pochodzenia mózgowego (BDNF, *Brain-Derived Neurotrophic Factor*) należy do rodziny neurotrofin syntetyzowanych w komórkach ośrodkowego i obwodowego systemu nerwowego, ale także w wielu tkankach obwodowych. Receptor kinazy tyrozynowej B (Trk-B, *Tyrosine receptor kinase B*), po aktywacji przez BDNF, inicjuje szlaki sygnałowe, wpływające na wzrost i funkcje neuronów. Reguluje także funkcjonowanie wielu szlaków metabolicznych i energetycznych. Tematyka podjęta w rozprawie doktorskiej mgr Norberta Grzelaka wpisuje się w aktualny, intensywnie rozwijający się nurt badań nad rolą neurotrofin w różnych procesach fizjologicznych i patologicznych.

Przedstawiona do recenzji praca pod tytułem: „Znaczenie osi sygnalizacyjnej BDNF/Trk-B w regulacji stężeń i aktywności biomarkerów zespołu metabolicznego w wątrobie i sercu szczura” została przygotowana pod opieką promotora dr hab. Włodzimierza Mrówczyńskiego, prof. AWF oraz promotora pomocniczego dr Dominika Kaczmarka. W skład cyklu wchodzi dwa oryginalne artykuły naukowe: 1) Grzelak N, Kaczmarek D, Mrówczyński W. Comparison of the effects of BDNF/TRKB signalling on metabolic biomarkers in the liver of sedentary and trained rats with normal and knockout BDNF genotypes. *Front Physiol.* 2023;14:1268648; 2) Grzelak N, Kaczmarek D, Poziemba KM, Mrówczyński W. Myocardial Disorders in BDNF-Deficient Rats: Limited Recovery Post-Moderate

Endurance Training. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2024;17:4649-4660, o łącznej punktacji IF=6,0 i 200 pkt. MEiN/MNiSW. Kandydat jest pierwszym autorem obydwu prac. Zgodnie z załączonym oświadczeniem, wkład Kandydata w powstanie rozprawy doktorskiej polegał na planowaniu badań, udziale w wykonywaniu badań biochemicznych i analizie wyników, opracowaniu statystycznym wyników, przygotowaniu rycin, udziale w pisaniu oryginalnej wersji pracy i odpowiedzi na recenzje.

W rozprawie zamieszczono kolejno: informacje o Kandydacie, wykaz zastosowanych w pracy skrótów, streszczenie w języku polskim i angielskim podsumowujące najważniejsze aspekty rozprawy, wstęp, w którym opisano udział BDNF w procesach fizjologicznych organizmu, a także związki pomiędzy treningiem wytrzymałościowym i stężeniem BDNF w chorobach sercowo-naczyniowych i metabolicznych. Następnie, podano cel pracy hipotezy badawcze, wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy, materiał i metody badań, wyniki, dyskusję i wnioski oraz piśmiennictwo (118 pozycji). Całość rozprawy kończy omówienie przebiegu pracy naukowo-zawodowej, kopia oświadczenia Kandydata o oryginalności rozprawy i samodzielności jej przygotowania, kopie oświadczeń współautorów o wkładzie w powstanie rozprawy doktorskiej oraz publikacje wchodzące w skład cyklu.

W pracy przyjęto hipotezę główną, że zaburzenia sygnalizacji osi BDNF/Trk-B będą przyczyniały się do dysfunkcji metabolicznych wątroby i serca. Hipotezy szczegółowe zakładały, że: 1) genotyp BDNF (niemodyfikowany vs. *knockout*) będzie wpływał na modulację aktywności i stężeń biomarkerów metabolicznych w tkance wątrobowej oraz mięśniu sercowym badanych szczurów poprzez zmiany w sygnalizacji osi BDNF/Trk-B w wątrobie i sercu oraz że 2) trening wytrzymałościowy o umiarkowanej intensywności będzie wpływał na oś sygnalizacyjną BDNF/Trk-B w wątrobie oraz mięśniu sercowym szczurów niemodyfikowanych genetycznie oraz tych z delecją genu BDNF, co będzie skutkowało modulacją aktywności oraz zmianą stężeń biomarkerów wybranych procesów metabolicznych obydwu narządów.

W badaniach przeprowadzonych na 41 szczurach płci męskiej określono koncentrację BDNF, receptora kinazy tyrozynowej B (Trk-B), jak również stężenia oraz aktywność podstawowych biomarkerów metabolicznych wątroby i mięśnia sercowego u 20 szczurów pozbawionych jednego allele genu BDNF (BDNF *knockout*) oraz u 21 szczurów niemodyfikowanych genetycznie (BDNF wild-type). Ponadto, w obydwu tych grupach, u połowy badanych szczurów oceniono wpływ 5-

tygodniowego treningu wytrzymałościowego o umiarkowanej intensywności na stężenie BDNF we krwi i tkankach oraz na zmiany metaboliczne w wątrobie i sercu.

Opis badań eksperymentalnych zawarty w publikacjach, jak również w tekście rozprawy jest wystarczająco obszerny. Autor przedstawia charakterystykę zwierząt (grup badanych i kontrolnych), protokół treningu wytrzymałościowego, sposób pobierania i homogenizacji tkanek, przeprowadzone pomiary i analizy biochemiczne. Procedury eksperymentalne zostały zatwierdzone przez Lokalną Komisję Etyczną ds. Badań nad Zwierzętami w Poznaniu (numer decyzji 58/2018), a eksperymenty przeprowadzono zgodnie z polską Ustawą o Ochronie Zwierząt, przepisami Unii Europejskiej oraz wytycznymi ARRIVE (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*).

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że delecja genu kodującego białko BDNF powoduje zaburzenia w osi sygnalizacyjnej BDNF/Trk-B, co skutkuje zmianami w metabolizmie lipidów oraz aktywności enzymów w wątrobie i mięśniu sercowym szczurów z grupy BDNF *knockout*. W wątrobie szczurów z tej grupy stwierdzono niższe stężenia BDNF, Trk-B, cholesterolu ogółem i lipoprotein LDL oraz niższe aktywności enzymów metabolicznych (aminotransferazy alaninowej - ALAT i gamma-glutamylotransferazy - GGT) i wyższe stężenia triglicerydów, w porównaniu ze szczurami niemodyfikowanymi genetycznie. W sercu szczurów z grupy BDNF *knockout* stwierdzono zarówno niższy poziom receptorów Trk-B, jak i niższe stężenia cholesterolu ogółem i lipoprotein LDL oraz mniejszą aktywność enzymów metabolicznych (aminotransferazy alaninowej - ALAT, aminotransferazy asparaginowej - ASAT, gamma-glutamylotransferazy - GGT, kinazy kreatynowej - CK oraz izoenzymu sercowego kinazy kreatynowej - CK-MB) w porównaniu ze szczurami niemodyfikowanymi genetycznie. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań zaproponowano następującą ścieżkę negatywnych konsekwencji metabolicznych związanych z delecją genu BDNF: znacząco niższe stężenia BDNF i Trk-B w wątrobie szczurów BDNF *knockout* ($Bdnf^{+/-}$ i $Bdnf^{+/-}T$) w porównaniu ze szczurami niemodyfikowanymi genetycznie ($Bdnf^{+/+}$ i $Bdnf^{+/+}T$), czyli zaburzenie osi sygnalizacyjnej BDNF/Trk-B, przyczynia się do zmiany metabolizmu lipidów i aktywności enzymów wątrobowych, prowadząc w efekcie do stłuszczenia wątroby oraz do otyłości.

Stwierdzono również, że u szczurów z usuniętym genem BDNF trening wytrzymałościowy nie zmienił wprawdzie zawartości BDNF i TrkB w wątrobie, ale poprawiał wydajność szlaków metabolicznych w wątrobie. Głównym efektem zastosowanego treningu u szczurów z grupy BDNF *knockout* było wyższe stężenie IL-6, co sugeruje powysiłkową regenerację wątroby tych zwierząt.

Trening przyczynił się również do większych stężeń insuliny i leptyny, niższej aktywności dehydrogenazy mleczanowej w wątrobie, a także wyższej aktywności CK w mięśniu sercowym badanych zwierząt, niezależnie od genotypu. Zmiany te łącznie mogą sugerować potreningową poprawę regulacji procesów metabolicznych, prowadzących do uzyskania niższej masy ciała oraz większej efektywności działania szlaków energetycznych mięśnia sercowego.

W mojej opinii cel badawczy rozprawy został osiągnięty, a wynikające z niego zadania szczegółowe - zrealizowane. W rozdziale dyskusja Autor dokonał omówienia uzyskanych wyników i porównał je z rezultatami badań innych autorów. Sformułowane wnioski odnoszą się do założonych wyjściowo hipotez badawczych. Z obowiązku recenzenta chciałabym jednak zwrócić uwagę na fakt, iż Kandydat nie dokonał krytycznej samooceny pracy i uzyskanych wyników. Nie podkreślił w dostateczny sposób wagi swoich doniesień ani sposobu, w jaki mogą one przyczynić się do uzupełnienia dotychczasowych braków w wiedzy w tym zakresie. Nie wskazał także słabych stron przeprowadzonych badań, ich ograniczeń i potencjalnych błędów. Ograniczenia badania są skrótowo przedstawione w jednej tylko z prac wchodzących w skład cyklu. Ponadto, zarówno w tytule pracy, jak i w jej tekście (np. hipoteza główna, dyskusja, wniosek nr 2), Kandydat posługuje się pojęciem „zespołu/syndrom metaboliczny”. Jednak w żadnym z artykułów, ani w opisie cyklu prac nie podaje, jaką konkretnie definicję zespołu metabolicznego u szczurów miał na myśli.

Niezależnie od przedstawionych uwag krytycznych, przedłożona do recenzji rozprawa stanowi w mojej opinii spójne rozwiązanie problemu naukowego, a temat podjęty przez Kandydata dotyczy nowatorskich zagadnień o dużym znaczeniu poznawczym. Na podkreślenie zasługuje fakt, że realizacja całego projektu wymagała od Kandydata uzyskania wiedzy i kompetencji umożliwiających wykorzystanie nowoczesnych technik badawczych (m.in.: technologii *targeted zinc finger nuclease*, pomiarów za pomocą testu immunoenzymatycznego *ELISA*, badań biochemicznych). Metody i narzędzia pomiarowe, zastosowane w celu przeprowadzenia omówionych eksperymentów, ciągle jeszcze są rzadko spotykane w polskich publikacjach naukowych.

Podsumowując, rozprawa doktorska pt.: „Znaczenie osi sygnalizacyjnej BDNF/Trk-B w regulacji stężeń i aktywności biomarkerów zespołu metabolicznego w wątrobie i sercu szczura” składa się z cyklu prac o wysokiej wartości merytorycznej, jest rozwiązaniem oryginalnego problemu naukowego, wskazuje na dobre opanowanie warsztatu pracy naukowej i ogólną wiedzę teoretyczną Kandydata. Rozprawę oceniam pozytywnie. Spełnia ona ustawowe warunki określone w art. 187 ust.



1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.UJ.2018 poz.1668), będące podstawą ubiegania się o stopień doktora. W związku z powyższym przedstawiam Wysokiej Radzie Naukowej Akademii Wychowania Fizycznego im. E. Piaseckiego w Poznaniu wniosek o dopuszczenie Pana mgra Norberta Grzelaka do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dyscyplinie nauki o kulturze fizycznej.

Edyta Sulińska