



Bydgoszcz, 21 września 2026

prof. dr hab. inż. Aleksandra Dunisławska
Katedra Biotechnologii i Genetyki Zwierząt
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt
Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr inż. Karoliny Zygunt

pt. „Ocena parakrynnego wpływu fibroblastów na proces miogenezy w kierunku otrzymywania mięsa technikami *in vitro*”

Podstawę przygotowania recenzji stanowi pismo RN/I/6/26 z dnia 9.07.2026 roku skierowane przez Dyrektora Instytutu Zootechniki Państwowego Instytutu Badawczego w Balicach - dr inż. Tomasza Jacka. Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Karoliny Zygunt pt. „Ocena parakrynnego wpływu fibroblastów na proces miogenezy w kierunku otrzymywania mięsa technikami *in vitro*” została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Katarzyny Piórkowskiej, przy współudziale promotora pomocniczego dr inż. Wojciecha Witarskiego. Postępowanie w sprawie o nadanie stopnia naukowego doktora realizowane jest w dyscyplinie **zootechnika i rybactwo**.

Rozprawa została przygotowana w formie cyklu trzech powiązanych tematycznie oryginalnych publikacji naukowych, opublikowanych w latach 2023-2026 w czasopiśmie *Animals*, *Biochimie* oraz *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. Łączna wartość współczynnika *Impact Factor* prac przedstawionych w cyklu wynosi 8,5, natomiast suma punktów według wykazu czasopism naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego zgodna z rokiem opublikowania wynosi 300. We wszystkich trzech publikacjach Doktorantka jest pierwszą autorką.

Na podstawie deklarowanego wkładu autorskiego można stwierdzić, że udział mgr inż. Karoliny Zygunt w przygotowaniu publikacji tworzących rozprawę miał charakter wiodący. Obejmował on współtworzenie koncepcji badań i metodyki, wykonywanie analiz eksperymentalnych i ich walidację, udział w analizach statystycznych, zarządzanie i wizualizację danych oraz przygotowanie oryginalnych wersji manuskryptów. W kolejnych etapach badań Doktorantka uczestniczyła także w nadzorowaniu przebiegu doświadczeń, a w przypadku trzeciej publikacji również w pozyskaniu finansowania i zarządzaniu projektem. Zakres ten wskazuje nie tylko na znaczący udział eksperymentalny Doktorantki, ale również na jej aktywność na etapie koncepcyjnym, analitycznym i organizacyjnym prowadzonych badań.

Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że część badań została zrealizowana w ramach projektu PRELUDIUM 22 Narodowego Centrum Nauki pt. „Wpływ fibroblastowych pęcherzyków zewnątrzkomórkowych na modulację procesów miogenezy bydłowych komórek satelitarnych: w kierunku otrzymywania mięsa technikami *in-vitro*”, którego kierownikiem jest mgr inż. Karolina Zygunt. Wcześniejsze etapy badań realizowano również w ramach projektu MINIATURA 5 NCN. Kierowanie własnym projektem badawczym przez Doktorantkę stanowi istotny argument

przemawiający za jej rosnącą samodzielnością naukową oraz umiejętnością planowania i organizacji badań.

Część syntetyczna rozprawy obejmuje streszczenia w języku polskim i angielskim, rozbudowany wstęp teoretyczny, cele pracy i hipotezy badawcze, wykaz i streszczenia publikacji tworzących cykl, szczegółowy opis materiałów i metod, wyniki wraz z dyskusją, wnioski, a także odrębny rozdział poświęcony ograniczeniom pracy i przyszłym kierunkom badań. Integralną część rozprawy stanowią również kopie publikacji oraz oświadczenia współautorów.

Za szczególnie wartościowe uważam wyodrębnienie rozdziału „*Ograniczenia i przyszłe kierunki badań*”, ponieważ świadczy ono o krytycznym podejściu Doktorantki do uzyskanych wyników oraz świadomości ograniczeń przyjętego modelu badawczego.

Ocena problematyki badawczej, jej aktualności i znaczenia naukowego

Problematyka podjęta w rozprawie doktorskiej mgr inż. Karoliny Zygmunt jest aktualna, interdyscyplinarna i dobrze osadzona w obszarze współczesnej biotechnologii zwierząt oraz bioinżynierii tkanki mięśniowej. Rozwój technologii mięsa komórkowego wiąże się z koniecznością rozwiązania szeregu problemów biologicznych i technologicznych, dotyczących m.in. wyboru odpowiedniego źródła komórek, utrzymania ich zdolności proliferacyjnej i różnicowania, składu oraz kosztów pożywek hodowlanych, a także opracowania wydajnych systemów hodowli trójwymiarowej. Doktorantka prawidłowo wskazuje, że jednym z istotnych ograniczeń tej technologii pozostają wysokie koszty prowadzenia hodowli komórkowych, w szczególności związane ze stosowaniem surowic i czynników wzrostu.

Za szczególnie interesujące uważam skierowanie uwagi na fibroblasty jako element mikrośrodowiska komórek mięśniowych i potencjalne źródło sygnałów regulujących przebieg miogenezy. W warunkach fizjologicznych fibroblasty uczestniczą w tworzeniu i przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej oraz w procesach regeneracyjnych tkanki mięśniowej, wpływając na aktywność komórek satelitarnych. Jednocześnie, jak wynika z przedstawionego przez Doktorantkę przegląd piśmiennictwa, dostępne doniesienia dotyczące wpływu fibroblastów na miogenezę nie są jednoznaczne, a wiele wcześniejszych badań koncentrowało się przede wszystkim na bezpośrednich kontaktach międzykomórkowych, w mniejszym stopniu analizując znaczenie sygnalizacji parakrynej. W tym kontekście koncepcję badań polegającą na ocenie parakrynnego wpływu fibroblastów na proliferację i różnicowanie bydłych mięśniowych komórek satelitarnych uważam za trafną i naukowo uzasadnioną. Szczególną wartość ma przeprowadzenie badań zarówno w klasycznym układzie dwuwymiarowym, jak i w bardziej złożonym systemie trójwymiarowym z wykorzystaniem mikronośników oraz bioreaktora typu *spinner flask*. Takie podejście umożliwia nie tylko analizę podstawowych mechanizmów komunikacji międzykomórkowej, ale również ocenę ich znaczenia w warunkach bardziej zbliżonych do potencjalnych zastosowań bioinżynieryjnych. Doktorantka słusznie podkreśla, że systemy 3D lepiej niż klasyczne hodowle monowarstwowe odwzorowują przestrzenną organizację komórek i warunki ich wzrostu, proliferacji oraz różnicowania.

Istotnym aspektem pracy jest również próba powiązania badań podstawowych nad regulacją miogenezy z możliwością ograniczenia kosztów technologii mięsa komórkowego. Wykorzystanie naturalnych sygnałów pochodzących z fibroblastów jako potencjalnego substytutu części kosztownych składników pożywek stanowi interesujący kierunek badawczy, szczególnie w kontekście dalszej optymalizacji warunków hodowli komórek mięśniowych. Doktorantka wskazuje ponadto na możliwość wykorzystania w przyszłości wybranych elementów sygnalizacji parakrynej, w tym pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, jako potencjalnych regulatorów przebiegu miogenezy.

Na podkreślenie zasługuje także osadzenie badań w szerszym kontekście zootechnicznym. Opracowanie bardziej zaawansowanych modeli komórkowych tkanki mięśniowej może mieć znaczenie nie tylko dla rozwoju technologii mięsa komórkowego, ale również dla badań nad wzrostem i regeneracją mięśni oraz dla ograniczenia wykorzystania zwierząt doświadczalnych zgodnie z zasadą 3R. Sama Doktorantka wskazuje na możliwość wykorzystania nowoczesnych systemów hodowli komórkowej jako narzędzia wspierającego badania biologiczne przy ograniczonym udziale zwierząt.

Cele pracy i hipotezy badawcze

Cele pracy oraz hipotezy badawcze zostały sformułowane w sposób logiczny i pozostają w bezpośrednim związku z problematyką podjętą w rozprawie. Doktorantka przyjęła cztery główne cele badawcze obejmujące: optymalizację składu pożywki hodowlanej wspierającej proliferację bydłęcych mięśniowych komórek satelitarnych, ocenę parakrynnego wpływu fibroblastów na przebieg miogenezy w warunkach hodowli 2D, analizę zmian transkryptomicznych oraz szlaków sygnałowych związanych z miogenezą, a następnie weryfikację obserwowanych zależności w bardziej zaawansowanym systemie hodowli 3D. Tak skonstruowany układ stawianych celów uważam za dobrze przemyślany, ponieważ odzwierciedla kolejność realizowanych etapów eksperymentalnych. Zastosowana sekwencja zwiększa spójność cyklu i pozwala stopniowo przechodzić od optymalizacji warunków hodowli do analizy mechanizmów biologicznych i ich weryfikacji w bardziej złożonym modelu.

Hipotezy badawcze zostały sformułowane w sposób umożliwiający ich eksperymentalną weryfikację. Pierwsza z nich zakładała, że pożywka zawierająca płodową surowicę bydłą oraz bFGF będzie najefektywniej stymulowała proliferację bydłęcych komórek satelitarnych. Druga dotyczyła zasadniczego problemu pracy i zakładała stymulujący wpływ sygnalizacji parakrynniej fibroblastów na przebieg miogenezy, możliwy do wykazania na poziomie transkryptomycznym i białkowym. Trzecia odnosiła się natomiast do wpływu warunków hodowli w bioreaktorze typu *spinner flask* na regulację szlaków sygnałowych i ekspresję markerów miogenezy w porównaniu z klasycznym systemem 2D.

Za mocną stronę rozprawy uważam szczególnie powiązanie analiz fenotypowych z badaniami molekularnymi. Ocena zmian przebiegu miogenezy nie została ograniczona do obserwacji morfologicznych czy tempa proliferacji, lecz uzupełniono ją analizą transkryptomu, ekspresji genów markerowych oraz wybranych białek. Pozwoliło to na ocenę badanego zjawiska na kilku poziomach organizacji biologicznej i zwiększyło wiarygodność interpretacji uzyskanych wyników.

Materiał i metody badawcze

Materiał badawczy oraz zastosowane metody zostały dobrane adekwatnie do postawionych celów i hipotez pracy. Na szczególne podkreślenie zasługuje wieloetapowy charakter doświadczeń, obejmujący zarówno optymalizację warunków hodowli bydłęcych mięśniowych komórek satelitarnych, jak i ocenę parakrynnego oddziaływania fibroblastów w układach dwu- i trójwymiarowych. Kolejne etapy badań zostały zaplanowane w sposób logiczny, a zastosowane metody umożliwiły ocenę badanego zjawiska na poziomie proliferacji komórek, ekspresji genów, transkryptomu oraz wybranych markerów białkowych.

W pierwszym etapie badań Doktorantka podjęła próbę optymalizacji składu pożywki hodowlanej dla pierwotnych bydłęcych mięśniowych komórek satelitarnych. Materiał do izolacji komórek pochodził z mięśnia najdłuższego grzbietu bydła rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, pozyskanego jako materiał poubojowy. Do oceny wpływu składu pożywki wykorzystano pełny układ czynnikowy obejmujący trzy zmienne. Takie podejście należy ocenić pozytywnie, ponieważ

pozwoili nie tylko na ocenę efektów poszczególnych składników pożywki, lecz również na identyfikację interakcji pomiędzy nimi.

Kolejny etap badań obejmował ocenę parakrynnego wpływu fibroblastów na miogenezę w warunkach hodowli 2D z wykorzystaniem systemu Transwell, umożliwiającego komunikację pomiędzy populacjami komórek bez ich bezpośredniego kontaktu. Rozwiązanie to zostało bardzo dobrze dobrane do pytania badawczego, ponieważ pozwala na analizę wpływu czynników wydzielanych przez fibroblasty przy jednoczesnym ograniczeniu udziału sygnalizacji zależnej od bezpośredniego kontaktu komórka–komórka. Za szczególnie cenne uważam połączenie tego modelu z analizą transkryptomiczną, a następnie walidacją wybranych genów oraz oceną zmian na poziomie białkowym. Takie wielopoziomowe podejście wzmacnia wiarygodność biologicznej interpretacji uzyskanych wyników.

Trzeci etap doświadczeń stanowił rozwinięcie modelu 2D i ocenę badanego zjawiska w warunkach trójwymiarowych z wykorzystaniem żelatynowych mikronośników oraz bioreaktora typu *spinner flask*. W tej części pracy zastosowano dodatkowo metody oczyszczania populacji komórkowych MACS i FACS, a po zakończeniu kokultury komórki mięśniowe oddzielano od fibroblastów przed dalszymi analizami molekularnymi. Uważam to za istotny element metodyczny, ponieważ ogranicza ryzyko przypisania zmian ekspresji genów komórkom mięśniowym w sytuacji, gdy sygnał mógłby pochodzić z obecnych w materiale fibroblastów. Zastosowanie analiz metabolicznych, qPCR oraz oznaczeń białkowych umożliwiło równoległą ocenę prawidłowości przebiegu hodowli i zmian związanych z miogenezą. Ogólny schemat doświadczeń 2D i 3D pozostaje spójny z kolejnymi etapami opisanymi w rozprawie.

Za mocną stroną pracy należy zatem uznać komplementarność zastosowanych technik. Doktorantka łączy klasyczne metody biologii komórki z analizami molekularnymi i wysokoprzepustowymi, a następnie weryfikuje obserwowane efekty w dwóch odmiennych systemach hodowlanych. Szczególnie wartościowe jest przejście od prostszego i lepiej kontrolowanego modelu 2D do bardziej złożonego modelu 3D, co pozwala ocenić, czy obserwowane zależności utrzymują się po zwiększeniu stopnia złożoności systemu eksperymentalnego.

Uzyskane wyniki i ich dyskusja

Uzyskane wyniki tworzą spójny ciąg eksperymentalny i odpowiadają kolejnym etapom realizacji założonych celów badawczych. Za szczególnie wartościowe uważam to, że Doktorantka nie ograniczyła się do oceny pojedynczego aspektu miogenezы, lecz kolejno zoptymalizowała warunki proliferacji bydlęcych mięśniowych komórek satelitarnych, scharakteryzowała ich odpowiedź na parakrynną sygnalizację fibroblastów w modelu 2D, a następnie podjęła próbę weryfikacji obserwowanych zależności w bardziej złożonym układzie hodowli trójwymiarowej.

W pierwszym etapie badań wykazano, że spośród analizowanych składników pożywki hodowlanej największy wpływ na tempo proliferacji komórek mięśniowych miał rodzaj zastosowanej surowicy, a kolejnym istotnym czynnikiem był dodatek bFGF. Najwyższą proliferację uzyskiwano w warunkach suplementacji płodową surowicą bydlęcą oraz bFGF w stężeniu 10 ng/mL. Jednocześnie stężenie glukozy nie wpływało istotnie na samo tempo proliferacji, jednak przy niższym jej stężeniu obserwowano ekspresję markerów wskazujących na utrzymywanie fenotypu komórek o właściwościach samoodnawiających. Wynik ten uważam za interesujący, ponieważ pokazuje, że optymalizacja pożywki nie powinna opierać się wyłącznie na maksymalizacji liczby komórek, lecz również uwzględniać zachowanie ich potencjału miogenego.

Zasadniczą część rozprawy stanowią wyniki dotyczące parakrynnego oddziaływania fibroblastów na bydlęce mięśniowe komórki satelitarne. Analiza transkryptomiczna w systemie 2D wykazała, że obecność fibroblastów prowadziła do zmian ekspresji genów związanych

z przebiegiem miogenezy. Wyniki te wskazują, że sygnalizacja parakrynną fibroblastów nie prowadzi po prostu do jednokierunkowego przyspieszenia całego procesu miogenezy, lecz wpływa przede wszystkim na jego wczesne etapy i może regulować tempo przechodzenia komórek pomiędzy kolejnymi fazami różnicowania. Doktorantka wskazuje, że zwiększona sygnalizacja, m.in. w obrębie szlaku TGF- β , mogła przyczyniać się do ograniczenia terminalnego różnicowania i formowania miotub. W mojej ocenie jest to jeden z ciekawszych rezultatów rozprawy, ponieważ pokazuje, że biologiczny efekt fibroblastów nie zależy jedynie od ich obecności, ale również od ilościowego i czasowego charakteru ich oddziaływania na komórki mięśniowe.

Ważnym elementem pracy jest potwierdzenie zasadniczego kierunku obserwowanych zmian w modelu trójwymiarowym. W warunkach hodowli z wykorzystaniem żelatynowych mikronośników oraz bioreaktora typu *spinner flask* w kokulturze z fibroblastami stwierdzono zwiększoną ekspresję markerów związanych zarówno z proliferacją, jak i wczesnym różnicowaniem miogennym. Na poziomie białkowym wykazano również zwiększoną ekspresję miozyny szkieletowej. Wyniki te są szczególnie wartościowe, ponieważ pokazują, że efekt obserwowany w prostszym modelu 2D nie zanika po przejściu do bardziej złożonego systemu hodowlanego.

Na pozytywną ocenę zasługuje sposób interpretacji wyników. Doktorantka odnosi obserwowane zmiany do biologii procesu miogenezy i funkcji poszczególnych markerów, a także podejmuje próbę wyjaśnienia rozbieżności pomiędzy etapami proliferacji i różnicowania. Dyskusja nie ogranicza się zatem do prostego zestawienia wyników własnych z danymi literaturowymi, lecz zmierza do stworzenia modelu, w którym fibroblasty pełnią funkcję dynamicznego regulatora niszy komórek mięśniowych.

Za najważniejszy wkład naukowy rozprawy uważam wykazanie, że fibroblasty poprzez sygnalizację parakrynną mogą w sposób zależny od warunków hodowli modulować przebieg miogenezy bydlęcych mięśniowych komórek satelitarnych, ze szczególnym nasileniem efektu na wczesnych etapach różnicowania. Potwierdzenie tej zależności w dwóch odmiennych modelach hodowlanych oraz jej wielopoziomowa charakterystyka molekularna stanowią, w mojej ocenie, oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Ocena wniosków

Wnioski sformułowane przez Doktorantkę są zasadniczo zgodne z uzyskanymi wynikami, pozostają w bezpośrednim związku z postawionymi celami i hipotezami badawczymi oraz dobrze odzwierciedlają kolejne etapy przeprowadzonego cyklu doświadczeń. Obejmują zarówno zagadnienia związane z optymalizacją warunków proliferacji bydlęcych mięśniowych komórek satelitarnych, jak i zasadniczy problem rozprawy. Pierwsze dwa wnioski odnoszą się do składu pożywki hodowlanej i wskazują na kluczowe znaczenie rodzaju surowicy oraz dodatku czynnika mitogenego bFGF dla proliferacji komórek mięśniowych. Za najważniejsze z punktu widzenia tytułowego problemu rozprawy uważam wnioski dotyczące parakrynnego wpływu fibroblastów na przebieg miogenezy. Pozytywnie oceniam również ostrożność zastosowaną we wniosku dotyczącym proliferacji w systemie 3D. Doktorantka wskazuje, że współhodowla z fibroblastami „przypuszczalnie” promuje proliferację, opierając tę interpretację głównie na zwiększonej ekspresji PAX7, MYF5 i MYOD. Takie sformułowanie jest właściwe, ponieważ zmiany ekspresji markerów molekularnych nie są równoznaczne z bezpośrednim pomiarem tempa proliferacji. Jednocześnie potwierdzenie zwiększonej ekspresji markerów różnicowania oraz miozyny szkieletowej stanowi silniejsze uzasadnienie dla wniosku dotyczącego wpływu fibroblastów na wczesne różnicowanie miogenne.

Doprecyzowania wymaga, w mojej ocenie, ostatni wniosek, zgodnie z którym „wykorzystanie sygnałów parakrynnych może z sukcesem znaleźć zastosowanie w optymalizacji wielkoskalowej produkcji mięsa technikami *in vitro*”. Jest to sformułowanie zbyt kategoryczne w stosunku do zakresu przeprowadzonych badań. Rozprawa wykazuje potencjał biologiczny sygnalizacji parakrynnnej fibroblastów i stanowi dobrą podstawę do dalszych badań aplikacyjnych, jednak nie obejmuje jeszcze walidacji procesu w skali produkcyjnej, analizy ekonomicznej, identyfikacji wszystkich aktywnych mediatorów ani oceny ich działania w wielkoskalowych systemach bioreaktorowych. Sama Doktorantka w rozdziale poświęconym ograniczeniom wskazuje na szereg nierozwiązanych problemów dotyczących skalowania hodowli, parametrów fizykochemicznych bioreaktorów i standaryzacji pożywek. Z tego względu bardziej adekwatne byłoby stwierdzenie, że uzyskane wyniki wskazują na potencjał wykorzystania sygnałów parakrynnnych fibroblastów w dalszej optymalizacji systemów produkcji mięsa technikami *in vitro*. Takie sformułowanie zachowuje znaczenie aplikacyjne wyników, ale wyraźnie oddziela potencjał technologiczny od jego pełnej walidacji.

Ocena strony formalnej i redakcyjnej

Rozprawa doktorska została przygotowana starannie i ma przejrzystą, logiczną strukturę. Część syntetyczna prowadzi czytelnika od wprowadzenia do problematyki mięsa komórkowego i biologii mięśniowych komórek satelitarnych, poprzez charakterystykę fibroblastów i ich potencjalnego udziału w regulacji miogenezy, do sformułowania celów i hipotez badawczych, opisu zastosowanych metod, prezentacji wyników, dyskusji oraz wniosków. Układ ten dobrze odzwierciedla kolejne etapy prowadzonych badań i ułatwia prześledzenie zależności pomiędzy założeniami pracy a uzyskanymi rezultatami.

Na pozytywną ocenę zasługuje sposób przygotowania części syntetycznej. Doktorantka nie ogranicza się do mechanicznego streszczenia trzech publikacji tworzących cykl, lecz podejmuje próbę ich połączenia w jeden ciąg badawczy. Szczególnie dobrze widoczne jest to w rozdziale obejmującym wyniki i dyskusję, gdzie optymalizacja warunków hodowli stanowi punkt wyjścia do dalszej analizy komunikacji parakrynnnej fibroblastów z komórkami mięśniowymi w systemach 2D i 3D. Takie rozwiązanie wzmacnia spójność rozprawy przygotowanej w formie cyklu publikacji.

Za wartościowy element opracowania uważam wyodrębnienie rozdziału „Ograniczenia i przyszłe kierunki badań”. Doktorantka wskazuje w nim zarówno ograniczenia wynikające z charakteru pierwotnych linii komórkowych, jak i problemy związane ze skalowaniem hodowli, oddziaływaniem naprężeń mechanicznych i ścinających, dystrybucją gazów oraz koniecznością dalszej standaryzacji pożywek hodowlanych. Świadczy to o krytycznym podejściu do własnych wyników i świadomości, że przejście od modelu eksperymentalnego do zastosowań technologicznych wymaga dalszej walidacji. Jednocześnie Doktorantka wyznacza logiczny kierunek kontynuacji badań, wskazując m.in. na analizę konkretnych komponentów sygnalizacji parakrynnnej, w tym pęcherzyków zewnątrzkomórkowych.

Piśmiennictwo jest obszerne i właściwie dobrane do zakresu rozprawy. Obejmuje 86 pozycji literaturowych oraz akty prawne, w tym zarówno klasyczne prace dotyczące biologii komórek satelitarnych i regulacji miogenezy, jak i liczne aktualne publikacje z lat 2024–2026 odnoszące się do mięsa komórkowego, systemów hodowli, mikronośników, ekonomiki pożywek i możliwości skalowania produkcji. Dobór literatury potwierdza dobrą orientację Doktorantki zarówno w biologicznych podstawach badanego procesu, jak i w szybko rozwijającym się obszarze technologii mięsa komórkowego.

Pod względem językowym rozprawa jest zasadniczo napisana poprawnie i w stylu właściwym dla opracowania naukowego. Terminologia specjalistyczna stosowana jest konsekwentnie, a zamieszczony wykaz skrótów ułatwia lekturę pracy, co przy dużej liczbie terminów z zakresu

biologii molekularnej, transkryptomiki i hodowli komórkowych ma istotne znaczenie. W tekście występują pojedyncze uchybienia redakcyjne i językowe, takie jak literówki, niespójności w zapisie terminów anglojęzycznych, jednak nie wpływa to na poziom merytoryczny pracy ani jej odbiór.

Uwagi dyskusyjne i pytania

Uzyskane przez Doktorantkę wyniki są wielowątkowe i otwierają kilka interesujących problemów dotyczących zarówno mechanizmów regulacji miogenezy przez fibroblasty, jak i możliwości wykorzystania tych zależności w technologii mięsa komórkowego. Poniższe uwagi mają charakter dyskusyjny i nie podważają wartości przeprowadzonych badań, lecz wskazują zagadnienia, które warto rozwinąć podczas publicznej obrony.

Pierwsza kwestia dotyczy identyfikacji czynników odpowiedzialnych za efekt parakryny fibroblastów. W pracy wykazano, że obecność fibroblastów wpływa na ekspresję wielu genów związanych z wczesnym różnicowaniem miogennym, a Doktorantka wskazuje również na potencjalne znaczenie TGF- β oraz możliwość wykorzystania w przyszłości pęcherzyków zewnątrzkomórkowych jako nośników sygnałów parakrynych. Jednocześnie sam skład sekretu fibroblastów nie został w rozprawie kompleksowo scharakteryzowany. Dlatego zasadne wydaje się pytanie: **które elementy sygnalizacji parakrynej fibroblastów Doktorantka uważa za najważniejsze dla obserwowanego efektu miogenego i jakie doświadczenia pozwoliłyby jednoznacznie określić ich udział?**

Kolejna kwestia dotyczy porównywalności wyników uzyskanych w systemach 2D i 3D. Doktorantka wykazała, że w obu modelach sygnalizacja parakryna fibroblastów sprzyjała wczesnym etapom miogenezy, jednocześnie podkreślając, że warunki hodowli w bioreaktorze charakteryzują się odmiennymi właściwościami fizykochemicznymi i prowadzą do innych wzorców ekspresji markerów miogennych. Interesujące byłoby więc odniesienie się do pytania: **w jakim stopniu różnice obserwowane pomiędzy modelami 2D i 3D wynikają z samej obecności fibroblastów, a w jakim z odmiennych warunków fizykochemicznych hodowli, takich jak mieszanie, naprężenia ścinające i transport składników odżywczych?**

Trzeci problem dotyczy zmienności biologicznej pierwotnych linii komórkowych. Sama Doktorantka w rozdziale poświęconym ograniczeniom słusznie wskazuje, że interpretacja wyników wymaga uwzględnienia pochodzenia komórek, wieku dawcy, rodzaju tkanki i parametrów prowadzenia hodowli. W związku z tym zasadne wydaje się pytanie: **na ile obserwowany efekt parakryny może być uogólniany na bydlęce komórki satelitarne pochodzące od innych osobników i jakie znaczenie miałyby w przyszłości zwiększenie liczby niezależnych dawców jako biologicznych powtórzeń doświadczenia?**

Ostatnia kwestia dotyczy potencjalnego znaczenia aplikacyjnego wyników. W pracy wskazano możliwość wykorzystania sygnałów parakrynych fibroblastów jako jednego z elementów optymalizacji produkcji mięsa komórkowego, a w rozdziale dotyczącym ograniczeń Doktorantka podkreśla problemy związane ze skalowaniem hodowli, kosztami pożywek oraz koniecznością standaryzacji warunków produkcji. W tym kontekście warto zapytać: **który element przedstawionych badań Doktorantka uważa obecnie za najbardziej perspektywiczny z punktu widzenia zastosowania technologicznego i jakie etapy walidacji byłyby konieczne przed przejściem do skali przemysłowej?**

Podsumowanie

W świetle przedstawionych powyżej argumentów stwierdzam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Karoliny Zygmunt pt. „Ocena parakrynnego wpływu fibroblastów na proces miogenezy w kierunku otrzymywania mięsa technikami *in vitro*” spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (t.j. Dz.U. z 2024 r. poz. 1571 z późn. zm.). Biorąc pod uwagę aktualność i oryginalność podjętej problematyki, wartość poznawczą uzyskanych wyników, logiczną konstrukcję cyklu publikacyjnego, szeroki i nowoczesny warsztat badawczy oraz znaczący, wiodący udział Doktorantki w realizacji badań, **wnoszę o dopuszczenie mgr inż. Karoliny Zygmunt do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie zootechnika i rybactwo.**

Jednocześnie, mając na uwadze oryginalność podjętego problemu naukowego, kompleksowość i wieloetapowy charakter przeprowadzonych badań, zastosowanie nowoczesnego i komplementarnego warsztatu badawczego, spójność cyklu publikacyjnego oraz istotny wkład poznawczy uzyskanych wyników w badania nad regulacją miogenezy i bioinżynierią tkanki mięśniowej, **wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Zygmunt.**

21.08.2026
Dmianowski
Hetsaunfo