

Streszczenie rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Zygmunt pt.:

Ocena parakrynnego wpływu fibroblastów na proces miogenezy w kierunku otrzymywania mięsa technikami *in vitro*

Promotor: prof. dr hab. Katarzyna Piórkowska

Promotor pomocniczy: dr inż. Wojciech WitarSKI

Data sporządzenia streszczenia: 19.05.2026

Praca wykonana w Instytucie Zootechniki Państwowym Instytucie Badawczym w Balicach.

Mięso komórkowe (ang. cultured meat) stanowi uzupełnienie dla tradycyjnej hodowli mięsa, wykorzystując zdolność komórek mięśniowych do formowania w warunkach *in vitro* zaawansowanych trójwymiarowych struktur odpowiadających tkance mięśniowej. Wykorzystanie potencjału mięśniowych komórek – komórek prekursorowych mięśni – do samoodnowy, proliferacji i różnicowania, w połączeniu z zaawansowanymi technikami hodowli komórkowej, umożliwiło przeprowadzenie pomyślnych prac prowadzących do otrzymania *in vitro* struktur odpowiadających tkance mięśniowej. Niemniej jednak, redukcja kosztów produkcji końcowego produktu oraz doskonalenie technik bioinżynierskich wymagają dalszych badań naukowców z wielu dziedzin.

Celem niniejszej pracy była ocena parakrynnego wpływu fibroblastów – komórek tkanki łącznej – na przebieg miogenezy bydłych komórek satelitarnych w systemie hodowli dwuwymiarowej (inserty typu *Transwell*) oraz hodowli trójwymiarowej (bioreaktory typu *spinner flask*). We wstępnym etapie, z wykorzystaniem analizy statystycznej DOE (ang. Design of Experiments), opracowano skład pożywki hodowlanej wspierającej proliferację komórek mięśniowych, przy jednoczesnym niskim stopniu spontanicznego różnicowania.

Otrzymane wyniki wskazują, że najistotniejszym czynnikiem determinującym tempo podziałów był rodzaj zastosowanej surowicy, a w dalszej kolejności dodatek czynnika mitogenicznego – zasadowego czynnika wzrostu fibroblastów (bFGF). Stężenie glukozy nie wpływało istotnie na tempo proliferacji, jednakże w warunkach obniżonej zawartości glukozy (1 g/L) utrzymywany był fenotyp komórek samoodnawiających się.

Ocena parakrynnego wpływu fibroblastów na przebieg procesu miogenezy w hodowlach dwuwymiarowych z wykorzystaniem analizy transkryptomu (RNA-Seq) wykazała, że fibroblasty poprzez sygnalizację parakrynną promują wczesny etap różnicowania miogenicznego. W warunkach promujących proliferację (tj. w pożywce wzrostowej) obserwowano zwiększoną ekspresję genów wczesnego różnicowania, takich jak *EGR1*, *IL6*,

NR4A1, *SOCS3* czy *EYA2*, przy jednoczesnej supresji ekspresji genów późnego różnicowania. Po indukcji różnicowania poprzez modyfikację warunków hodowli efekt ten ulegał nasileniu, co wskazuje, że sygnalizacja parakrynną fibroblastów może regulować zakres różnicowania miogenego. Istotnym okazał się również stosunek sygnałów parakrynnych, który ulegał zmianom w trakcie hodowli z uwagi na szybsze tempo proliferacji fibroblastów, co mogło wywierać hamujący wpływ na terminalne różnicowanie (tj. formowanie się miotub) m.in. poprzez podwyższoną sygnalizację TGF- β .

Ocena parakrynnego wpływu fibroblastów na przebieg miogenezy w warunkach trójwymiarowych, z wykorzystaniem żelatynowych mikronośników i bioreaktorów typu *spinner flask*, wykazała istotnie wyższą ekspresję genów zaangażowanych w proliferację (jak *PAX7*, *MYF5*, *MYOD*), jak i wczesne różnicowanie (*MYOG*, *EGR1*). Ponadto, poziom ekspresji białka miozyny szkieletowej – markera różnicowania – był istotnie wyższy w warunkach kokultury z fibroblastami.

Podsumowując, fibroblasty na drodze parakrynną sygnalizacji wpływają stymulująco na wczesny etap różnicowania miogenego komórek mięśniowych, co potwierdzają analizy przeprowadzone z wykorzystaniem modeli hodowli dwuwymiarowych i trójwymiarowych. Poprzez modulację stosunku ilości sygnałów pochodzących z fibroblastów możliwe jest ukierunkowane indukowanie różnicowania miogenego. Ponadto uzyskane wyniki wskazują na potencjał wykorzystania elementów sygnalizacji parakrynną, np. w postaci pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (EVs – ang. extracellular vesicles), jako efektywnego substytutu kosztownych czynników biologicznych i chemicznych dodawanych do pożywki hodowlanej.

