

ABSTRAKT

ČECHOVÁ, K. 2024. *Vplyv kryoprezervácie s nízkymi koncentraciami dimetylsulfoxidu na vybrané vlastnosti keratinocytov* [Dizertačná práca]

Univerzita Komenského v Bratislave, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Katedra jadrovej fyziky a biofyziky. Školiteľ: prof. RNDr. Libuša Šikurová, CSc. Bratislava: FMFI UK, 2024. 145 s.

Kryoprezervácia buniek je jednou z hlavných výziev súčasnej kryobiológie, najmä s ohľadom na progresívne rastúcu oblasť tkanivového inžinierstva. Spôsob kryoprezervácie môže výrazne ovplyvniť kvalitu buniek po rozmrazení. Z tohto dôvodu je potrebné zaviesť protokoly, ktoré zabezpečia dobrý fyziologický a adherentný stav zmrazovaných buniek, pretože ich efektívna regenerácia vedie k vysokej aplikačnej účinnosti v bunkových terapiách. Úspešná kryoprezervácia si vyžaduje starostlivé zváženie niekoľkých kľúčových faktorov vrátane výberu kryoprotektívneho činidla (CPA) a jeho koncentrácie.

Predkladaná dizertačná práca sa zaoberá štúdiom efektu kryoprezervácie buniek s rôznymi nízkymi koncentraciami kryoprotektívnej látky dimetylsulfoxid (DMSO). Je známe, že DMSO je schopný zmierniť poškodenie buniek súvisiace so zmrazovaním počas pomalého ochladzovania, ale jeho zjavná toxicita je stále predmetom diskusie.

Preskúmali sme kryoprezerváciu ľudských keratinocytov s použitím štandardných a nižších dávok DMSO v zmrazovacej zmesi, ktoré minimalizujú jeho toxické účinky, ale ešte si zachovávajú kryoprotektívne účinky. Bunky ľudských kožných keratinocytov sme zmrazovali s (1,8 %; 2,2 %; 5 % a 10 % v/v) koncentraciami DMSO a krátkodobo (počas 4 dní) ich uchovávali pri teplote $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po rozmrazení sme ich porovnali s nezmrazenými bunkami. Zamerali sme sa na viabilitu a proliferáciu buniek po rozmrazení a sledovali sme zmeny v biofyzikálnych charakteristikách, ktoré v bunkách vznikajú vplyvom kryoprezervácie. Analyzovali sme zmeny morfológie a ultraštruktúry spôsobené zmrazovaním, sledovali sme vplyv DMSO v závislosti od jeho koncentrácie a zvažovali sme tak postupy na zníženie jeho toxických účinkov. Preukázali sme, že DMSO aj v nižších koncentráciách ($\geq 2,2\%$) môže ochrániť keratinocyty počas ich kryoprezervácie a krátkodobého skladovania pri nízkej teplote. Koncentrácia DMSO nižšia ako 2,2 % už nemusí mať dostatočný kryoprotektívny účinok, pretože boli preukázané rozdiely v štrukturálnych a dynamických vlastnostiach zmrazovacej zmesi, ktoré spôsobujú, že bunky po rozmrazení podliehajú apoptóze. Tieto zistenia by mohli mať prínos v optimalizácii metódy kryoprezervácie kožných buniek pre biotechnológie aj základný výskum.

Kľúčové slová: keratinocyty, DMSO, kryoprezervácia, viabilita, proliferácia, ultraštruktúra, morfológia, usporiadanosť lipidových dvojvrstiev, fluorescenčná sonda DPH, skenovacia elektrónová mikroskopia, transmisná elektrónová mikroskopia.