



Univerzita Komenského v Bratislave
Fakulta matematiky, fyziky a informatiky

Meno a priezvisko študenta: Mgr. Ivan Klbik, PhD.
Študijný program: fyzika kondenzovaných látok a akustika (Jednoodborové štúdium, doktorandské III. st., denná forma)
Študijný odbor: 13. fyzika
Typ záverečnej práce: dizertačná
Jazyk záverečnej práce: slovenský
Sekundárny jazyk: anglický

Názov: Termoanalytická a mikroštruktúrna charakterizácia fázového správania v systémoch kryoprotektívna zmes a lipidová dvojvrstva

Abstrakt: Táto dizertačná práca sa zameriava na skúmanie kryoprotektívnych vlastností dimetylsulfoxidu (DMSO), bežne používaného v procesoch kryoprezervácie biologických buniek. Hlavným cieľom kryoprezervácie je uchovať bunky pri nízkych teplotách ($<0^{\circ}\text{C}$) bez poškodenia ich funkcií a životaschopnosti. Proces zmrazovania a rozmrazovania však predstavuje významný stres pre bunky, čo môže viesť k stratám ich životaschopnosti, hlavne kvôli tvorbe ľadu a zmenám v bunkových médiách. Pridanie DMSO do bunkového média zmiernuje tieto negatívne javy, avšak mechanizmy jeho pôsobenia zostávajú do istej miery neobjasnené. Zvlášť pozoruhodná je silná závislosť účinnosti DMSO od jeho koncentrácie, ktorá bola identifikovaná pri kryoprezervácii ľudských krvotvorných kmeňových buniek. V rámci tejto práce bola formulovaná hypotéza, ktorá tvrdí, že eutektická kryštalizácia fyziologických solí môže byť hlavným mechanizmom bunkového kryozranenia ľudských krvotvorných kmeňových buniek. Táto práca sa sústreďuje na objasnenie tohto javu prostredníctvom kombinácie experimentálnych a teoretických metód, vrátane termoanalytickej a mikroštruktúrnej charakterizácie, doplnených o molekulárno-dynamické simulácie. Cieľom je preskúmať vplyv DMSO na fázové správanie kryoprotektívnych zmesí v objemovom stave aj v uväznení lipozómov, ktoré slúžia ako modelový systém pre bunky a ich membrány. Výsledky týchto štúdií potvrdili hypotézu o eutektickej kryštalizácii, pričom bolo pozorované potlačenie eutektickej kryštalizácie solí DMSO, čo koreluje s nástupom jeho kryoprotektívneho účinku. Tieto poznatky nám tiež umožnili navrhnúť nový kryoprezervačný prístup pre zmrazovanie ľudských kožných buniek s využitím polyetylénglykolu 400 ako kryoprotektívnej látky, ktorý sme otestovali so sľubnými výsledkami. Tieto výsledky by mohli prispieť k lepšiemu pochopeniu mechanizmov kryoprotekcie a zjednodušiť návrh kryoprezervačných protokolov, ktoré sú v súčasnosti často založené na empirickom prístupe.

This dissertation explores the cryoprotective properties of dimethyl sulfoxide (DMSO), commonly used in the cryopreservation processes of biological cells. The primary goal of cryopreservation is to preserve cells at low temperatures ($<0^{\circ}\text{C}$) without damaging their functions and viability. However, the freezing and thawing process represents significant stress for the cells, which can lead to viability losses, mainly due to ice formation and changes in cellular media. Adding DMSO to the cell media mitigates these adverse effects, yet the mechanisms of its action remain somewhat unclear. Particularly notable is the strong dependence of DMSO's effectiveness on its concentration, identified



during the cryopreservation of human hematopoietic stem cells. Within this work, a hypothesis was formulated stating that eutectic crystallization of physiological salts might be the primary mechanism of cellular cryoinjury in human hematopoietic stem cells. This work focuses on elucidating this phenomenon through a combination of experimental and theoretical methods, including thermoanalytic and microstructural characterization, complemented by molecular-dynamic simulations. The objective is to investigate the effect of DMSO on the phase behavior of the cryoprotective mixtures in the bulk state and under the confinement of liposomes, which serve as a model system for cells and their membranes. The results of these studies confirmed the hypothesis about eutectic crystallization, with observations showing suppression of salt eutectic crystallization by DMSO, correlating with the onset of its cryoprotective effect. These insights also allowed us to design a new cryopreservation protocol for freezing human skin cells using polyethylene glycol 400 as a cryoprotective agent, which we tested with promising results. These findings could contribute to a better understanding of the mechanisms of cryoprotection and simplify the design of cryopreservation protocols, which are often based on an empirical approach.

Dátum odovzdania: 27.04.2024

.....
Študent