



<https://doi.org/10.15407/cryo35.02.085>

УДК 615.36:615.451.1:[611.018.5:618.48]:612.59

**І.Й. Щенявський \*, Ю.С. Ахатова**

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,  
м. Харків, Україна

\* [ivan\\_shchenyavskiy@cryonas.org.ua](mailto:ivan_shchenyavskiy@cryonas.org.ua)

## АНТИОКСИДАНТНА ТА АНТИГІПОКСИЧНА АКТИВНІСТЬ ЕКСТРАКТІВ КОРДОВОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ, ОТРИМАНИХ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ РІЗНИХ ТЕМПЕРАТУРНИХ РЕЖИМІВ ДЕСТРУКЦІЇ КЛІТИННИХ ЕЛЕМЕНТІВ ТА СЕРЕДОВИЩ ЕКСТРАГУВАННЯ

У роботі проведено аналіз залежності антиоксидантної та антигіпоксичної активності екстрактів кордової крові людини (ККЛ) від температурного режиму деструкції, соляного складу і рН розчину екстрагування. На моделі аутоокиснення адреналіну встановлено, що антирадикальна активність всіх кріоекстрактів перевищувала даний показник екстрактів, отриманих із використанням тих самих розчинів екстрагування у поєднанні з витримуванням при 70 °С впродовж 30 хв, або застосуванням гіпотонічного лізису. Виявлено, що вміст маломолекулярного діальдегіду та гідропероксидів ліпідів в мозку підданих впливу нормобаричної гіпоксії тварин, яким вводили низькомолекулярну фракцію (до 10 кДа), виділену з кріоекстрактів ККЛ, значуще нижчий, ніж після введення низькомолекулярної фракції екстрактів, отриманих із застосуванням високої температури або гіпотонічного лізису. Під час гіпотонічного лізису молекули ферментів та низькомолекулярних біологічно активних пептидів також зазнають суттєвого руйнівного впливу ендогенних протеаз і втрачають свою специфічну активність. Доведено, що кріоекстрагування, незалежно від застосованих швидкостей заморожування-відігрівання і складу та рН середовища, дозволяє отримати кінцеві продукти із значно більшою високими антирадикальними та антигіпоксичними властивостями, ніж після витримування при високій температурі та гіпотонічного лізису. Одержані результати доводять перспективність використання кріотехнологій в процесі переробки тканин та крові тварин і людини з метою отримання збагаченої біологічно активними речовинами сировини для виробництва лікарських засобів.

**Ключові слова:** кордова кров, екстрагування, низькомолекулярна фракція, антирадикальні властивості, антигіпоксична дія.

Розробка методів отримання біологічно активних низькомолекулярних сполук природного походження є одним з перспективних напрямків сучасної біології, біотехнології та фармакології [3, 6, 20, 22]. У клінічній практиці протягом багатьох років підтверджена ефективність застосування клітинних елементів, плазми, сироватки та окремих високомолеку-

лярних речовин кордової крові людини (ККЛ) [8, 18, 19, 23]. Як свідчать результати численних досліджень, у процесі розпаду клітин ККЛ і тканин фетоплацентарного комплексу вивільнюються речовини з вираженими властивостями біогенних регуляторів та стимуляторів, за допомогою яких можливо впливати на інтенсивність процесу запалення, направленість

Цитування: Щенявський ІЙ, Ахатова ЮС. Антиоксидантна та антигіпоксична активність екстрактів кордової крові людини, отриманих із застосуванням різних температурних режимів деструкції клітинних елементів та середовищ екстрагування. *Проблеми кріобіології і кріомедицини*. 2025; 35(2): 87–93. <https://doi.org/10.15407/cryo35.02.085>

© Видавець ВД «Академперіодика» НАН України, 2025. Стаття опублікована на умовах відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC-ND license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

імунної відповіді при інфекційних захворюваннях, а також на швидкість та якість процесів репаративної регенерації [11, 12, 13]. На жаль, обрані методи децелюляризації початкової сировини, екстрагування з неї біологічно активних речовин (БАР) та стерилізації кінцевого продукту можуть суттєво впливати на його склад, що призводить до варіабельності концентрації діючих речовин [9]. Найчастіше для отримання екстрактів тканин фетоплацентарного комплексу використовують гіпотонічний лізис [16], нагрівання до високих температур у діапазоні 50—100 °С і більше для покращення гідролізу, інактивації ферментів, стерилізації, тощо, [7, 15], обробку ультразвуком [14], а також піддають впливу низької температури [21]. Зі всього спектра технологій отримання БАР з природного матеріалу найбільш перспективними і такими, що превалюють за рядом якісних характеристик є кріотехнології [6, 21]. Використання низьких температур під час передобробки біологічної сировини сприяє повнішому руйнуванню клітинних структур і виходу БАР у розчин екстрагування [1, 6, 10]. Однак, на сьогодні у науковій літературі існує мало експериментальних даних щодо впливу різних низькотемпературних режимів, складу і рН середовищ екстрагування на якісний та кількісний склад кінцевих продуктів.

Метою даної роботи було порівняння впливу різних температурних режимів деструкції та екстракції, сольового складу, рН середовища екстрагування на антиоксидантні та антигіпоксичні властивості екстрактів кордової крові людини.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Усі дії, пов'язані з отриманням кордової крові людини, проводились згідно з рекомендаціями Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи наукових медичних досліджень за участю людини», а маніпуляції з тваринами — відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», ухвалених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) і узгоджених із положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Заготівлю ККЛ проводили під час фізіологічно нормальних пологів на 38—40-му тижні вагітності в пологових будинках м. Харків за попередньої згоди породіллі. Забір крові здійснювали лікарі медичної бригади шляхом вільного надходження крові з пуповини до стерильного контейнера без антикоагулянту до моменту відділення плаценти. Об'єм одного зразка становив 30—100 мл.

Отримані зразки ККЛ змішували з декількома варіантами середовища екстрагування різного сольового складу і рН у співвідношенні 1 : 4 та інкубували впродовж 30 хв при кімнатній температурі (18—20 °С). Були використані такі середовища екстрагування: 150 мМ NaCl і KCl з рН 5,0 і 7,4 та дистильована вода рН 5,6. Кріоекстракти ККЛ отримували шляхом заморожування та відігрівання зразків з різними швидкостями. Було використано два низькотемпературних режими децелюляризації та екстрагування: швидке заморожування-швидке відтавання та повільне заморожування-повільне відтавання. Зразки заморожували за допомогою програмного заморожувача ЗП10 (СКТБ з ДВ при Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків) з функцією запису значень температури у процесі заморожування. Швидке заморожування зразків проводили у середньому зі швидкістю 30 °С / хв до кінцевої температури -196 °С. Процес повільного заморожування зразків, розташованих у касетах, відбувався з повільною швидкістю 1 °С / хв у парах рідкого азоту. Швидке відігрівання зразків проводили з допомогою водяної бані за температури 38 °С, повільне відігрівання — за температури 18—20 °С. Для порівняння використовували екстракти ККЛ, отримані інкубуванням на водяній бані при температурі 70 °С впродовж 30 хв та подальшого охолодження за кімнатної температури [17], і екстракти, отримані шляхом гіпотонічного лізису, викликаного інкубуванням в дистильованій воді з рН 5,6 впродовж 30 хв при кімнатній температурі.

Після закінчення екстрагування зразки центрифугували 10 хв при 10000g. Отримані супернатанти використовували для подальших досліджень.

Низькомолекулярну фракцію (до 10 кДа) екстрактів ККЛ виділяли методом ультрафільт-

трації з використанням мембранного модуля «Vivaflow200» (Sartorius, Німеччина) [17].

Кількісне визначення вмісту загального білка проводили за колориметричним методом Лоруї [4].

Антиоксидантну активність екстрактів ККЛ досліджували шляхом визначення їх антирадикальної дії (АРА) з використанням моделі аутоокиснення адреналіну [2]. Метод оцінки гальмування аутоокиснення адреналіну базується на реакції неферментативного окиснення адреналіну в адренохром у лужному середовищі, що супроводжується накопиченням супероксиданіон-радикала. Антиоксидантна активність — це здатність БАР усувати або пригнічувати утворення вільних радикалів, тому здатність екстрактів гальмувати аутоокиснення адреналіну в адренохром у водному середовищі можна використовувати для кількісної оцінки їх антиоксидантної активності.

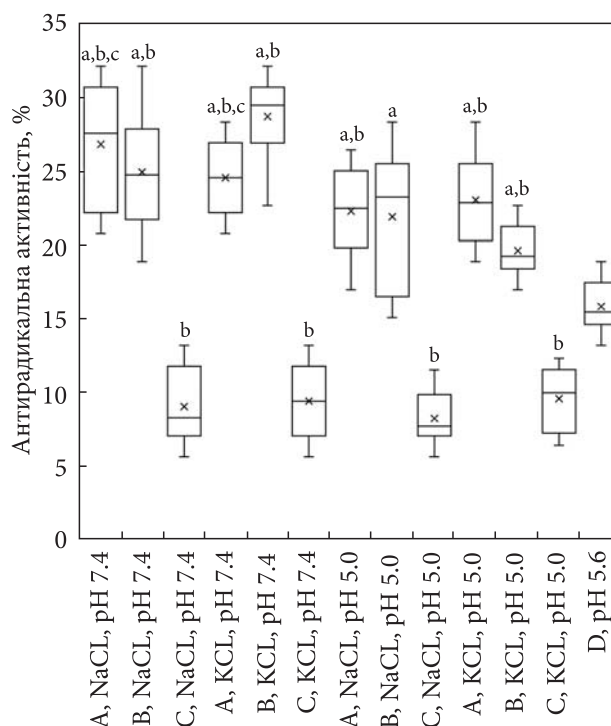
У пробірці вносили 2 мл 0,15 М натрій-карбонатного буферу (рН 10,2), потім додавали по 20 мкл досліджуваних екстрактів. Реакцію запускали внесенням у систему 0,4 мл 0,1%-го розчину адреналіну. Через 10 хв вимірювали оптичну густину розчинів за допомогою спектрофотометра «UNICO 2100» (UNICO, США) при довжині хвилі 480 нм.

Антирадикальну активність досліджуваних препаратів обчислювали за формулою:

$$ARA = \frac{(E_c - E_t)}{E_c} 100 \%,$$

де  $E_k$  — оптична густина контрольного розчину;  $E_d$  — оптична густина розчину досліджуваного екстракту.

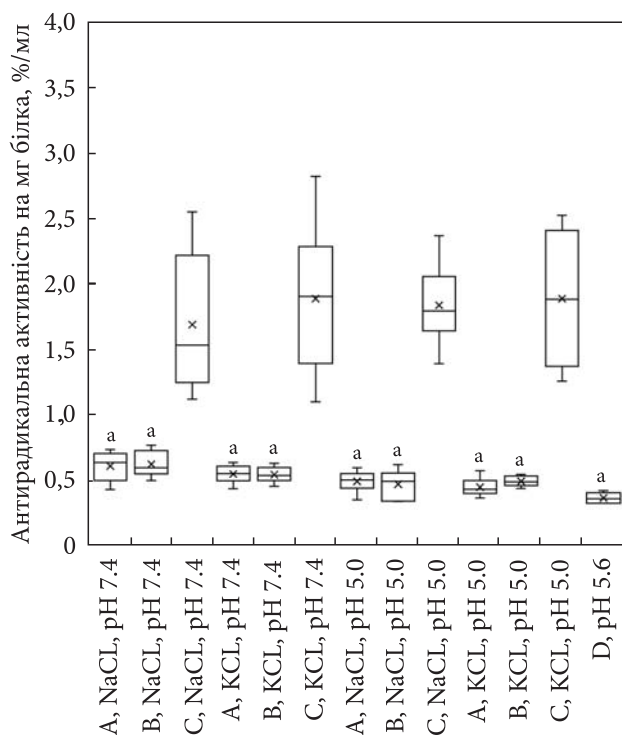
Антигіпоксичну активність низькомолекулярної фракції (до 10 кДа) екстрактів ККЛ *in vivo* досліджували на основі визначення вмісту малонового діальдегіду (МДА) та гідропероксидів ліпідів у головному мозку мишей, підданих нормобаричній гіпоксії-гіперкапнії [5]. Принцип методу визначення вмісту МДА полягає в реагуванні цієї речовини з тіобарбітуровою кислотою, з утворенням триметинового комплексу з максимумом поглинання при 532 нм. Відносний вміст гідропероксидів ліпідів встановлювали шляхом вимірювання оптичної густини при 480 нм. Експерименти проводили на білих нелінійних мишах-самцях масою 29,5—30,5 г, які утримувалися на стандартній



**Рис. 1.** АРА низькомолекулярних фракцій екстрактів ККЛ: А — швидке заморожування-швидке відтавання; В — повільне заморожування-повільне відтавання; С — витримування при 70 °С впродовж 30 хв; D — гіпотонічний лізис; (а — відмінності значущі порівняно з екстрактом, отриманим способом С із застосуванням того ж самого розчину,  $p \leq 0,05$ ; b — відмінності значущі порівняно з екстрактом, отриманим способом D,  $p \leq 0,05$ ; c — відмінності значущі порівняно з екстрактом, отриманим способом А із застосуванням того ж самого розчину з рН 5,0,  $p \leq 0,05$ )

дієті. Досліджувані фракції вводили внутрішньочеревно щодня впродовж 5 днів та за 0,5 години до експерименту в дозі 4 мг (у перерахунку на суху речовину) на 1 кг маси тіла тварини. Мишей поміщали в колбу об'ємом 250 мл, яку щільно закривали скляною пробкою, змащеною герметиком. На 20-й хвилині перебування в умовах гіпоксії/гіперкапнії тварин діставали з колби, декапітували, забирали головний мозок, подрібнювали за допомогою ножиць, переносили в скляну пробірку механічного гомогенізатора, яка охолоджувалася шляхом занурення в суміш води та льоду, і здійснювали гомогенізацію десятьма проходженнями товкача при 400 об/хв.

Статистичний аналіз отриманих експериментальних даних проводили за допомогою програмного пакета «StatGraphics Plus 2.1» (Statgraphics Technologies, Inc., США) шляхом дис-



**Рис. 2.** АРА екстрактів ККЛ в перерахунку на 1 мг білка: А — швидке заморожування-швидке відтавання; В — повільне заморожування-повільне відтавання; С — витримування при 70 °С впродовж 30 хв; D — гіпотонічний лізис; (а — відмінності значущі порівняно із екстрактом, отриманим способом С з застосуванням того ж самого розчину,  $p \leq 0,05$ )

персійного аналізу ANOVA з використанням Post hoc критеріїв Шеффе, Бонферроні, Фішера LSD, Тьюкі-Крамера та Краскела-Уолліса. Значущість впливу фактора на досліджуваний параметр визначали за критерієм  $p$ -value. Відмінності вважали значущими при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження показали, що кріоекстракти, незалежно від використаних швидкостей заморожування та відігрівання, складу та рН розчинів екстрагування, мають більш високу АРА порівняно з екстрактами, отриманими з використанням тих самих розчинів у поєднанні з витримуванням при 70 °С впродовж 30 хв та шляхом гіпотонічного лізису (крім отриманого з застосуванням 150 мМ NaCl з рН 5,0 у поєднанні з повільним заморожуванням-повільним відтаванням). Слід зазначити, що застосування гіпотонічного лізису також дозволяє отримати екстракт зі значуще вищим показником АРА порівняно з екстрагуванням при 70 °С, але не настільки високим, як у випадку

кріоекстрактів. Це свідчить, що кріотехнології забезпечують більш ефективне збереження антиоксидантних властивостей БАР, які входять до складу екстрактів у порівнянні з екстрагуванням при 70 °С та з використанням осмотичного лізису (рис. 1).

Залежності АРА кріоекстрактів ККЛ від режиму заморожування-відтавання та соляного складу середовища децелюляризації і екстрагування нами не виявлено. Дослідження залежності даного показника від рН середовища екстрагування (розчини з рН 5,0 порівнювали з тими ж розчинами з рН 7,4) виявили значущі відмінності між кріоекстрактами, отриманими з використанням 150 мМ NaCl у поєднанні зі швидким заморожуванням-швидким відтаванням. Також значущими були відмінності в АРА між кріоекстрактами, отриманими з використанням 150 мМ KCl з різними значеннями рН у поєднанні з повільним заморожуванням-повільним відтаванням. В обох випадках кріоекстракт, отриманий з застосуванням більш кислого середовища, мав нижчу АРА (рис. 2).

Використаний нами метод інгібування аутоокиснення адреналіну дозволяє оцінити загальну антиоксидантну дію БАР у екстрактах. Проте антиоксидантна система складається з ферментативної та неферментативної ланок. Для екстрактів тваринного походження важливим є збереження активності ферментів антиоксидантної системи (перш за все, супероксиддисмутази, каталази та пероксидази).

Низька АРА екстрактів, отриманих із застосуванням нагрівання, може свідчити про те, що під впливом високої температури, з одного боку, відбувається агрегація значної кількості білків, що призводить до їх випадіння в осад, а з іншого, — структура білків (зокрема, ферментів) значно змінюється, в результаті чого ферменти втрачають свою специфічну активність. Низькі температури є менш пошкоджуючим фактором для макромолекул під час децелюляризації та екстрагування. Крім того вони пригнічують дію протеаз та дозволяють зберегти активність ферментів антиоксидантної системи кріоекстрактів.

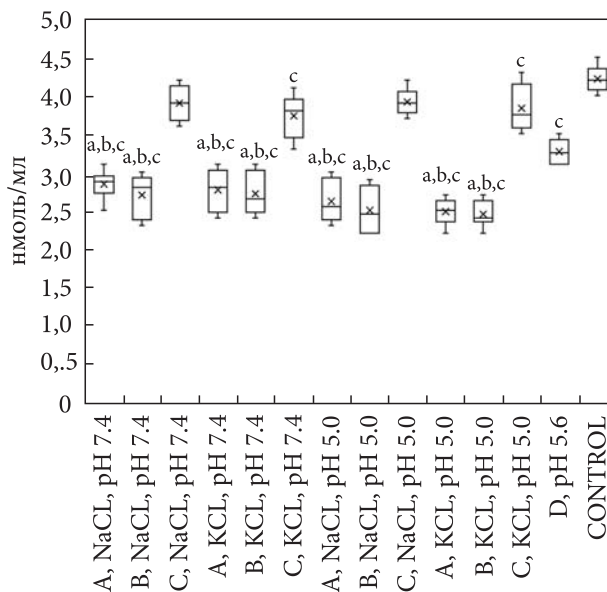
Оскільки досліджувані екстракти мали різний вміст речовин білкової природи, було проведено аналіз їх АРА у перерахунку на 1 мг білка. Даний показник екстрактів, отриманих шляхом витримування при 70 °С впродовж

30 хв незалежно від сольового складу та рН розчину екстрагування, був значуще вищим ( $p \leq 0,05$ ), ніж після кріоекстракції й застосування того ж самого розчину або гіпотонічного лізису (рис. 2). Це може свідчити про те, що АРА екстрактів, отриманих із застосуванням нагрівання, можливо забезпечується не ферментами антиоксидантної системи, а компонентами небілкової природи або низькомолекулярними пептидами.

Раніше було показано, що антиоксидантною та антигіпоксичною дією володіє низькомолекулярна (до 5 кДа) фракція кордової крові корів, що свідчить про присутність в ній низькомолекулярних речовин з антиоксидантними властивостями [11, 13]. Проблема визначення вмісту в кордовій крові добре вивчених БАР (мікроелементи, вітаміни, стероїдні та пептидні гормони, тощо) з молекулярною масою не більше 5 кДа, не є складною, але далеко не всі низькомолекулярні речовини у складі кордової крові було ізольовано, ідентифіковано та досліджено на предмет біологічної активності. З метою підтвердження участі низькомолекулярних компонентів кордової крові в забезпеченні антиоксидантної дії її екстрактів було досліджено антигіпоксичний вплив фракцій до 10 кДа екстрактів ККЛ в експерименті *in vivo*.

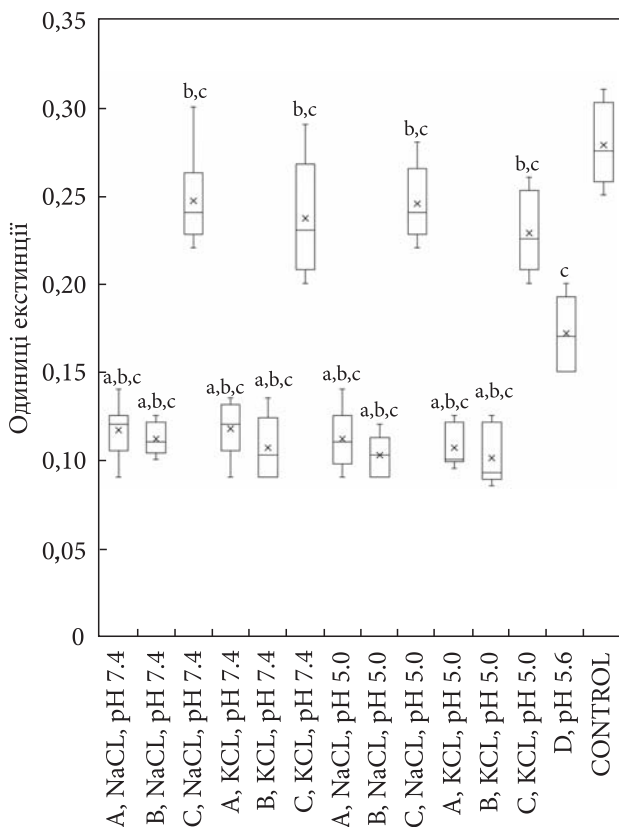
Результати визначення вмісту МДА (рис. 3) та гідропероксидів ліпідів (рис. 4) в мозку тварин, підданих впливу нормобаричної гіпоксії-гіперкапнії після 5-денного курсу ін'єкцій низькомолекулярних фракцій екстрактів ККЛ, свідчать про більш високу антигіпоксичну активність кріоекстрактів, незалежно від температурного режиму, рН та соляного складу середовища децелюляризації та екстрагування порівняно з екстрактами, отриманими з застосуванням високої температури або гіпотонічного лізису.

Екстрагування шляхом гіпотонічного лізису також дозволило отримати екстракти з більш високою антигіпоксичною активністю, ніж в екстрактах, отриманих із застосуванням високої температури ( $p \leq 0,05$ ). Антигіпоксична активність екстрактів, отриманих витримуванням при 70 °С, була на рівні контролю (замість низькомолекулярних фракцій екстрактів мишам вводили фізіологічний розчин), але була помітна тенденція до зниження рівня МДА і гідропероксидів ліпідів у супернатанті гомогенату головного мозку піддослідних тварин.



**Рис. 3.** Рівень МДА в гомогенаті мозку мишей, підданих нормобаричній гіпоксії-гіперкапнії після 5-денного курсу ін'єкцій низькомолекулярних фракцій екстрактів ККЛ: А — швидке заморожування-швидке відтавання; В — повільне заморожування-повільне відтавання; С — витримування при 70 °С впродовж 30 хв; D — гіпотонічний лізис; контроль — 0,9 % NaCl; (a — відмінності значущі порівняно з екстрактом, отриманим способом С із застосуванням того ж самого розчину,  $p \leq 0,05$ ; b — відмінності значущі порівняно з екстрактом, отриманим способом D,  $p \leq 0,05$ ; c — відмінності значущі порівняно з контролем,  $p \leq 0,05$ )

Виявлено, що показники вмісту МДА (рис. 3) та гідропероксидів ліпідів (рис. 4) у мозку тварин, підданих впливу нормобаричної гіпоксії-гіперкапнії після 5-денного курсу ін'єкцій низькомолекулярної фракції екстракту ККЛ, отриманого шляхом гіпотонічного лізису, були значуще нижчими порівняно з відповідними показниками при введенні низькомолекулярних фракцій екстрактів, отриманих витримуванням за температури 70 °С, але значуще вищими, ніж у разі застосування низькомолекулярних фракцій кріоекстрактів, незалежно від способу отримання останніх. Цей факт можна пояснити тим, що гіпотонічний лізис відбувається за позитивних температур, тому можливе руйнування низькомолекулярних пептидів та втрата ними біологічної активності під дією ендогенних протеаз. У цьому аспекті перевагою кріогенної технології є пригнічення дії ендогенних ферментів на БАР у процесі екстрагування і тому у екстракт з клітин кордової крові надходить більше речовин зі збереженою активніс-



**Рис. 4.** Вміст гідропероксидів ліпідів у гомогенаті мозку мишей, підданих нормобаричній гіпоксії-гіперкапнії після 5-денного курсу ін'єкцій низькомолекулярних фракцій екстрактів ККЛ: А — швидке заморожування-швидке відтавання; В — повільне заморожування-повільне відтавання; С — витримування при 70 °С впродовж 30 хв; D — гіпотонічний лізис; контроль — 0,9 % NaCl; (a — відмінності значущі порівняно з екстрактом, отриманим способом С із застосуванням того ж самого розчину,  $p \leq 0,05$ ; b — відмінності значущі порівняно з екстрактом, отриманим способом D),  $p \leq 0,05$ ; c — відмінності значущі порівняно з контролем,  $p \leq 0,05$

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Белоус АМ, Цветков ЦД. Научные основы технологии сублимационного консервирования. Київ: Наукова Думка; 1985. 208 с.
2. Губський ЮІ, Дунаєв ВВ, Беленічев ІФ, та ін. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініційованні вільнорадикальних процесів у дослідях *in vitro*: методичні рекомендації. Київ; 2002. 27 с.
3. Гулевський ОК, Грищенко ВІ, Моїсєєва НМ, Нікольченко АЮ. Властивості і перспективи використання кордової крові в клінічній практиці. Український журнал гематології та трансфузіології. 2005; 1(5): 5–14.
4. Копильчук ГП, Николайчук ІМ. Лабораторний практикум із біохімії. Чернівці: Чернівецький національний університет ім. Ю. Федьковича; 2019. 144 с.
5. Міщенко ТВ. Вплив раундапу на показники перекисного окислення ліпідів коропа. Гідробіологічний журнал. 2011; 47(3): 69–73.
6. Brock J, Golding D, Smith PM, et al. Update on the role of Actovegin in musculoskeletal medicine: a review of the past 10 years. *Clin J Sport Med*. 2020; 30(1): 83–90.
7. Choi HY, Kim SW, Kim B, et al. Alpha-fetoprotein, identified as a novel marker for the antioxidant effect of placental extract, exhibits synergistic antioxidant activity in the presence of estradiol. *PLoS One*. [Internet] 2014 Jun 12 [cited 2024 Nov 27]; 9(6): e99421. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0099421>

ттю, зокрема, з антиоксидантними та антигіпоксичними властивостями.

Отже, встановлено, що АРА кріоекстрактів, незалежно від використаних для їх отримання температурних режимів, соляного складу та рН розчинів екстрагування, вища, ніж у екстрактів, отриманих із використанням тих самих розчинів для екстрагування у поєднанні з витримуванням при 70 °С впродовж 30 хв або з застосуванням гіпотонічного лізису. Результати дослідження антигіпоксичної дії фракцій до 10 кДа екстрактів ККЛ *in vivo* також показали, що в кріоекстрактах вона значно вища порівняно з екстрактами, отриманими з застосуванням нагрівання або гіпотонічного лізису.

Результати дослідження доводять перспективність впровадження кріотехнологій у виробництво препаратів на основі БАР природного походження.

#### ВИСНОВКИ

Результати проведеного дослідження показали, що низькотемпературні децелюляризація та екстрагування дозволяють отримувати екстракти кордової крові людини з більш високою антирадикальною та антигіпоксичною активністю порівняно з застосуванням експозиції при 70 °С впродовж 30 хв або гіпотонічного лізису.

Встановлено, що на вміст у кріоекстрактах біологічно активних речовин антиоксидантної/антирадикальної дії практично не впливає рН використаного для децелюляризації та екстрагування середовища і зовсім не впливають його соляний склад та температурний режим екстрагування (повільне заморожування-повільне відтавання чи швидке заморожування-швидке відтавання).

8. Ehrhart J, Sanberg PR, Garbuzova-Davis S, Ehrhart J. Plasma derived from human umbilical cord blood: Potential cell-additive or cell-substitute therapeutic for neurodegenerative diseases. *J Cell Mol Med.* 2018. 22(12): 6157–66.
9. Emara AK, Anis H, Piuze NS. Human placental extract: the feasibility of translation from basic science into clinical practice. *Ann Transl Med.* [Internet] 2020 Mar; [cited 2024 Nov 27]. 8(5): 156. Available from: <https://atm.amegroups.org/article/view/35941/html>
10. Fuller BJ, Lane N, Benson EE. *Life in the frozen state.* London: CRC Press; 2004. 672 p.
11. Gulevsky AK, Abakumova ES, Shenyavsky II. Biological activity of low molecular weight fraction obtained from cord and peripheral blood in cows of different ages. *Fiziol Zh.* 2017; 63(2): 73–9.
12. Gulevsky OK, Akhatova YuS. Influence of a cord blood low-molecular (below 5 kDa) fraction on adenylic nucleotide contents in frozen-thawed leukoconcentrate cells. In: 50th Conference of the Society for Low Temperature Biology. Abstract book. (2014 Oct. 8–10, London, UK). London; 2014. p. 71.
13. Gulevsky OK, Shenyavsky II. Antihypoxant activity of low molecular weight fraction bovine blood cryohemolysate at different stages of ontogenesis. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2017; 27(1): 41–50.
14. Jung J, Lee HJ, Lee JM, et al. Placenta extract promote liver regeneration in CCl<sub>4</sub>-injured liver rat model. *Int Immunopharmacol.* 2011; 11(8): 976–84.
15. Lee YK, Chung HH, Kang SB. Efficacy and safety of human placenta extract in alleviating climacteric symptoms: prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Obstet Gynaecol Res.* 2009; 35(6): 1096–101.
16. Liu J, Luo S, Yang J, et al. The protective effect of sheep placental extract on concanavalin A-induced liver injury in mice. *Molecules.* [Internet] 2018 Dec 21 [cited 2024 Nov 27]; 24(1): 28. Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/1/28>
17. Moisieieva N, Shcheniavskiy I, Gorina O, et al. Study of release of biologically active compounds from cord blood under different conditions of low-temperature impact. *Probl Cryobiol Cryomed.* 2022; 33 (4): 250–62.
18. Querol S, Samarkanova D. Rapid review: next generation of cord blood banks; transplantation and beyond. *Transfusion.* 2019; 59(10): 3048–50.
19. Samarkanova D, Rodríguez L, Vives J, et al. Cord blood-derived platelet concentrates as starting material for new therapeutic blood components prepared in a public cord blood bank: from product development to clinical application. *Blood Transfus.* 2020; 18(3): 208–16.
20. Samiei F, Jamshidzadeh A, Noorafshan A, et al. Human placental extract ameliorates structural lung changes induced by amiodarone in rats. *Iran J Pharm Res.* 2016; 15 (Suppl): 75–82.
21. Shabunin SV, Vostroilova GA, Shabanov IE. Screening of biologically active agents depending on technological parameters of cryogenic fractionation of placenta. *Problems of Cryobiology.* 2005; 15(3): 306–9.
22. Togashi S, Takahashi N, Iwama M, et al. Antioxidative collagen-derived peptides in human-placenta extract. *Placenta.* 2002; 23: 497–502.
23. Xia J, Minami S, Kuwabara K, et al. Stem cell secretome as a new booster for regenerative medicine. *Biosci Trends.* 2019; 13(4): 299–307.

Отримано 13.03.2025

Прийнято до друку 19.06.2025

*I.Y. Shcheniavskiy* \*, *Yu.S. Akhatova*

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv

\* [ivan\\_shchenyavskiy@cryonas.org.ua](mailto:ivan_shchenyavskiy@cryonas.org.ua)

#### ANTIOXIDANT AND ANTIHYPOXIC ACTIVITY OF HUMAN CORD BLOOD EXTRACTS OBTAINED WITH VARIOUS TEMPERATURE REGIMENS OF DESTRUCTION OF CELLULAR ELEMENTS AND EXTRACTION MEDIA

The research analysed the dependence of antioxidant and antihypoxic activity of human cord blood (HCB) extracts on the temperature regimen of destruction, salt composition and pH of the extraction solution. Using the adrenaline auto-oxidation model, it was found that the antiradical activity of all the cryoextracts exceeded this index of those obtained using the same extraction solutions in combination with incubation at 70 °C for 30 min, or with the use of hypotonic lysis. The content of malondialdehyde and lipid hydroperoxides in the brain of animals exposed to normobaric hypoxia, which were injected with a low-molecular fraction (up to 10 kDa) isolated from HCB cryoextracts, was found to be significantly lower than when being injected with a low-molecular fraction of extracts obtained using high temperature or hypotonic lysis. During hypotonic lysis, enzyme molecules and low-molecular biologically active peptides also undergo significant destructive effects of endogenous proteases and lose their specific activity. It has been proven that cryoextraction, regardless of the applied freeze-thawing rates and the composition and pH of the medium, allows obtaining final products with significantly higher anti-radical and anti-hypoxic properties than after holding at high temperature and hypotonic lysis. Our findings prove the prospects of using cryotechnologies in the processing animal and human tissues and blood to obtain raw materials enriched with biologically active substances to produce medicines.

**Key words:** Keywords: cord blood, extraction, low-molecular fraction, anti-radical properties, anti-hypoxic action.