

V.N. Karazin Kharkiv National University / Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Ukraine, 61022, Kharkiv, 6 Svobody Square / Україна, 61022, м. Харків, майдан Свободи 6
Tel.: +380976295237 / Тел.: +380976295237
E-mail: borozenets@karazin.ua

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

This article is distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution (CC-BY) License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited © All authors, 2026 / Ця стаття розповсюджується на умовах ліцензії **Creative Commons Attribution (CC-BY)**, яка дозволяє необмежене використання, поширення та відтворення в будь-якому форматі за умови належного цитування оригінальної роботи © Всі автори, 2026

Received 29.09.2025 / Стаття надійшла 29.09.2025 року
Accepted 09.02.2026 / Стаття прийнята до друку 09.02.2026 року
Published 27.03.2026 / Опубліковано 27.03.2026 року

DOI 10.29254/2077-4214-2026-1-180-171-181

UDC 678.744.7:612.111.014.43:57.086.13

Hvozdiuk Ya. V., Seliuta A. A., Poliakova H. L., Gurina T. M.

USE OF POLYVINYL ALCOHOL AS A COMPONENT OF CRYOPRESERVATIVE SOLUTION TO CRYOPRESERVE HUMAN ERYTHROCYTES

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

poliakova79ann@gmail.com

Cryopreservation of erythrocytes is the main method for long-term storage of blood cell components, but the effectiveness of this process is limited by damage caused by the formation and recrystallization of ice crystals. A promising approach to reducing cryodamage is the use of macromolecular impermeable cryoprotectants, in particular polyvinyl alcohol (PVA). The aim of the study was to investigate the effect of PVA with a molecular weight of 9 kDa at different concentrations on ice recrystallization processes and to evaluate its effectiveness in cryopreserving human erythrocytes. The study's objective was to examine human erythrocytes obtained from donor blood. PVA solutions in phosphate-saline buffer at concentrations ranging from 0.1 to 1.5% were used. Phase transformations and ice recrystallization were studied using thermomechanical analysis. The cryopreservation modes used differed in cooling rates and had the same heating rate. The preservation of human erythrocytes was assessed by hemolysis levels. It was found that an increase in PVA concentration contributes to the effective inhibition of ice recrystallization, and at a concentration of about 1%, this process is almost completely suppressed. It was shown that uncontrolled cooling leads to complete erythrocyte hemolysis. The best cell preservation was achieved with slow, controlled cooling at 3 degrees/min in a 1% PVA solution. Polyvinyl alcohol exhibits cryoprotective activity and is a promising component of cryopreservation media for human erythrocytes under slow, controlled cooling conditions.

Key words: cryopreservation, phase transition, ice recrystallization, polyvinyl alcohol, human erythrocytes.

Connection of the publication with planned research works.

The proposed study is a fragment of SRW “The influence of naturally occurring gel-forming polysaccharides on the cryoprotective effect of cryoprotective solutions” (state registration number 0125U004150) of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine.

Introduction.

The preservation of biological material remains a fundamental focus for modern biotechnology and practical medicine. The basic principles of most preservation methods are usually based on lowering the temperature, which ensures long-term storage by slowing down the temperature-dependent metabolism of living organisms [1]. The fact remains that biological objects are mainly water, which forms ice crystals at low temperatures. This, in turn, leads to dehydration and lethal damage to biological material, which is currently one of

the biggest problems in cryopreservation of cells, tissues, and organs [2].

Cryopreservation, as one of the modern methods of preserving biological objects, is important for further practical application. However, the formation and growth of ice crystals during the freezing-thawing procedure decrease the viability of the biomaterial, which is the dominant factor in damage and the biggest problem in cryopreservation. Therefore, the introduction of methods to control the growth of ice crystals during cooling and inhibit their recrystallization during heating is crucial for minimizing cell damage [3].

To preserve the structural integrity and biological activity of the material being frozen, it is important to select highly effective cryoprotective solutions that contain modern cryoprotective agents [4]. The chemical composition of the cryoprotective solution plays an important role in the successful cryopreservation of various biological samples [5].

Today, permeable, low-molecular-weight cryoprotectants, such as glycerol and dimethyl sulfoxide, are the dominant components in the formulation of protective solutions for low-temperature storage. However, in practical use, they have a negative effect on cells and the human body as a whole and therefore require further removal. In view of this, scientists are increasingly turning their attention to impermeable cryoprotectants that act in the extracellular space. Membrane-tropic macromolecular cryoprotectants, which stabilize the membrane against cryodamage and are easily removed after thawing, are promising additives to cryoprotective solutions [4]. One of the most common representatives is polyvinyl alcohol (PVA), which has significant potential as an ice crystal growth inhibitor (CGI) [6, 7]. The work [8] describes the use of PVA for cryopreservation of red blood cells, several types of nuclear cells, and microorganisms. For many years, work has been underway on the cryopreservation of erythrocytes, describing the use of combined cryoprotective solutions with the addition of synthetic PVA polymer [9, 10].

Cryopreservation remains the primary method for long-term storage of blood cell components to meet the needs of clinical medicine, transfusion medicine, and replenishing blood bank supplies.

Given the promising prospects for using PVA as a substance that inhibits ice recrystallization, it is relevant to investigate the possibility of using PVA solutions as an independent cryoprotective medium.

The aim of the study.

A study of the ice recrystallization process in cryoprotective solutions containing polyvinyl alcohol (PVA) with a molecular weight of 9 kDa at various concentrations, and the effectiveness of their use during the cryopreservation of human red blood cells.

Object and research methods.

The subject of the study was a red blood cell concentrate obtained from human donor blood of group A (II), collected using the "Glyugitsir" blood preservative at the Municipal non-profit enterprise of the Kharkiv Regional Council "Regional Blood Service Center" which was stored for no more than 48 hours at a temperature of $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$. The packed red blood cells were obtained by centrifuging the preserved donor blood at 1250 g for 25 minutes.

PVA solutions (molecular weight 9 kDa) (Sigma-Aldrich, USA) were used in the study at concentrations of 0.1, 0.2, 0.5, 1, and 1.5%. For experimental studies, the solutions were prepared gravimetrically based on 0.1 M phosphate-saline buffer (PSB, pH 7.4) and expressed as mass percent (mass %). In the experiment, the solutions were used after a 24-hour incubation at a temperature of $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Thermomechanical analysis was used to study the effect of PVA solutions on the recrystallization of ice during the thawing of biological specimens [11]. A sample with a volume of $0.5 \times 10^{-6} \text{ m}^3$ was placed in a deformation device, cooled at rates of $3^\circ\text{C}/\text{min}$ or $20^\circ\text{C}/\text{min}$ to a temperature of -160°C , subjected to an external deformation stress ($\sigma = 0.66 \times 10^5 \text{ kg}/\text{m}^2$), then heated at a rate of $1^\circ\text{C}/\text{min}$, and the thermomechanical curve (TMA curve) was recorded. The temperature intervals of phase-structural transformations in the samples were determined by the deviation of the experimental curve

from tangents drawn to sections of the TMA curve with a constant rate of change [12-14].

The concentration of free hemoglobin in the supernatant and total hemoglobin in the cell suspension was determined by the hemoglobin cyanide method using the "Hemoglobin SpL 200" kit (Ukraine); the hematocrit value was measured on a CM-70 centrifuge (Elmi, Latvia); and the percentage of erythrocyte hemolysis in the supernatant was calculated as described in [15].

In a study of the cytotoxic and cryoprotective effects of PVA on human erythrocytes, cryoprotective solutions were added dropwise to erythroconcentrate over a period of 5 minutes at a temperature of $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ in a 1:1 volume ratio. The cryoprotective effect of PVA solutions was studied over a concentration range of 0.1-1%; the duration of erythrocyte exposure to the solutions was 10 minutes. The control group consisted of erythrocytes added to PSB in a 1:1 ratio (by volume).

Some samples were frozen in 2-mL microtubes (Eppendorf, Ukraine) at an uncontrolled rate by immersion in liquid nitrogen and stored at -196°C for 1 to 3 weeks. Other samples were frozen in a programmable freezer "UOP-6" (Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, National Academy of Sciences of Ukraine) with controlled cooling rates of 1 and $3^\circ\text{C}/\text{min}$. The samples were thawed in a water bath at a temperature of $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ with constant gentle agitation of the containers.

Research results and their discussion.

The primary factor in cryodamage to cells during freezing and thawing is the formation and growth of ice crystals during cooling and their subsequent enlargement during the recrystallization process in the heating phase. It is precisely the recrystallization of ice that leads to mechanical damage to cell membranes, disruption of osmotic balance, and, as a result, hemolysis of red blood cells. In this regard, the primary objective of the study was to investigate the effect of PVA on the course of recrystallization processes in cryoprotective solutions.

The phosphate-saline buffer is a component of the cryoprotective solution that contains the majority of free water, which in turn determines the presence and intensity of the recrystallization process. Therefore, in the first stage, phase-structural transformations in the PSB were analyzed, with particular attention paid to the recrystallization process. Then, PVA was added to the PSB, and the effect of increasing its concentration on the intensity of the recrystallization process was observed.

Figures (a-f) show the TMA curves of PSB and PSB solutions with added PVA at various concentrations, obtained at different cooling rates (3 and 20 degrees/min)

Given that the intensity of ice recrystallization during the heating stage depends on the rate of prior cooling, different cooling rates (3 and 20 degrees/min) were applied to the samples to confirm the course of this process. It is known that each melting of the solid phase is preceded by a corresponding recrystallization process of the fraction that subsequently melts [16-18].

According to the thermomechanical analysis (fig. a), a kink is observed in the PSB during the heating stage in the temperature range from -30 to -22°C , associated with recrystallization prior to the melting of the PSB eutectic. Further on, the slope of the TMA curve changes again in accordance with the subsequent phase transformation, namely the melting of the PSB eutectic. The addition of PVA leads to significant changes in the charac-

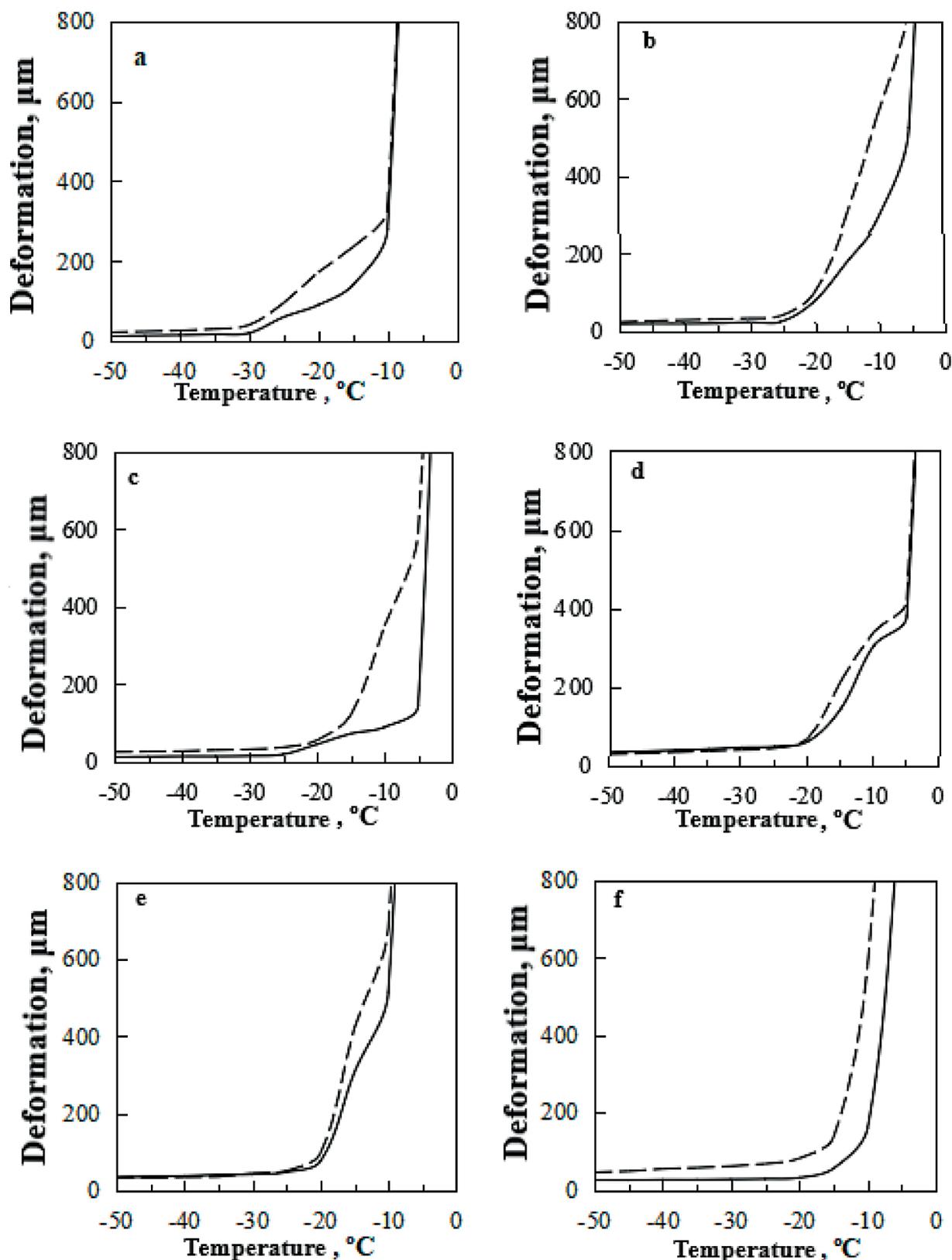


Figure – TMA curves of PSB (a) and PVA solutions with added surfactants (b – 0.1%, c – 0.2%, d – 0.5%, e – 1%, f – 1.5%, respectively) under identical experimental conditions: cooling rate of 3 °C/min (curves – –) or 20 °C/min (curves –), heating rate of 1 °C/min.

teristic inflections on the TMA curves. Even at a low PVA concentration (0.1%), signs of PSB eutectic recrystallization during the heating stage disappear, indicating PVA's ability to effectively suppress this process even at low concentrations. This is consistent with experimental data

for samples containing PVA, in which the corresponding inflection point in the specified temperature range (from –30 to –22°C) is absent (fig. b-f). At the same time, in PSB (fig. a), a clearly defined ice recrystallization region is observed, manifested by a characteristic inflection in

the TMA curve in the temperature range from -21 to -15°C , which is in good agreement with literature data on the high susceptibility of aqueous buffer systems to ice crystal growth [1, 2].

The ice recrystallization process then gradually transitions into a phase transition corresponding to its melting (temperature range from -15 to -5°C). As the cooling rate of the samples increases, the kink on the TMA curves corresponding to the recrystallization transformations of ice becomes more pronounced. The obtained results correlate with the data presented in the works of Thorat A. and Suryanarayanan R. [19] and Han B. et al. [20], which also investigated phase-structural transformations in PSB using methods such as cryomicroscopy, differential scanning calorimetry, X-ray diffraction, and thermal analysis.

The addition of PVA to PSB leads to a concentration-dependent decrease in the intensity of ice recrystallization, while the temperature range of this process remains unchanged. Already at PVA concentrations ranging from 0.2 to 0.5%, a decrease in recrystallization intensity is observed, and at PVA concentrations of 1 to 1.5%, signs of such a transformation on the TMA curves practically disappear (**fig. f**), indicating effective inhibition of ice crystal growth during heating due to the addition of PVA.

The obtained data are consistent with the current understanding of the mechanism by which PVA acts as an inhibitor of the ice recrystallization process, similar to natural antifreeze proteins, which involves the specific adsorption of polymer macromolecules onto the surface of ice crystals and the inhibition of their further growth [6, 7]. The mechanism of PVA-mediated inhibition of ice recrystallization is attributed to the formation of hydrogen bonds between the polymer's hydroxyl groups and the ice surface, which impedes the recrystallization process [6, 7]. Our data on the inhibition of ice recrystallization at PVA concentrations of about 1% are in good agreement with the results of Dyubko T. et al. [7], who demonstrated that PVA with a molecular weight of 9 kDa effectively modifies the processes of ice crystallization and growth in aqueous solutions.

Given the potential for undesirable osmotic and viscosity effects at higher polymer concentrations, a PVA concentration range of up to 1% was selected for further biological studies. Furthermore, such concentrations do not lead to the accumulation of toxic effects from PVA use.

In the next stage, the cryoprotective efficacy of PVA solutions was investigated during the freezing of human red blood cells. It was shown that during uncontrolled rapid cooling by direct immersion of samples in liquid nitrogen, complete erythrocyte hemolysis was observed regardless of PVA concentration (0.1-1%). This indicates that under conditions of high cooling rates, the primary mechanism of cell damage is intracellular ice formation, which cannot be prevented solely by inhibiting ice recrystallization in the extracellular space.

In contrast, during slow, controlled cooling at 1 and 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, a clear relationship between PVA concentration and red blood cell viability after thawing was observed. The **table** presents data on red blood cell viability after cryopreservation with different PVA concentrations in the cryoprotective solution and at different slow cooling rates (1 and 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$).

Table – Survival of red blood cells during cooling at rates of 1 and 3 degrees per minute in a PVA solution

Substance	PVS concentration, %	Hemolysis, %
Control	–	0.02±0.01
cooling rate: 1 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$		
PVA solutions in phosphate buffer	0.1	100
	0.2	100
	0.5	92.4±5.1
	1	84.9±2.1
cooling rate: 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$		
PVA solutions in phosphate buffer	0.1	100
	0.2	100
	0.5	15±5.0
	1	1.2±0.5

At a cooling rate of 1 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ in 0.1% and 0.2% PVA solutions, red blood cells underwent complete hemolysis, whereas increasing the polymer concentration to 0.5% and 1% reduced the hemolysis rate to (91.4±5.1)% and (84.9±2.1)%, respectively, however, cell viability remained insufficient for practical application. The best results were obtained when erythrocytes were cooled at 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Under these conditions, in a 0.5% PVA solution, the hemolysis rate was (15±5)%, whereas in a 1% PVA solution, the number of destroyed cells decreased to (1.2±0.5)%. Such high erythrocyte survival indicates the effective cryoprotective action of PVA under conditions of slow cooling, which is likely due to an optimal balance between cell dehydration, a reduction in free water volume, and the inhibition of ice recrystallization processes.

Similar results were described by Deller R. et al. [9], who demonstrated the possibility of effective cryopreservation of erythrocytes using polymers - IRI - without the use of glycerin. The authors also attribute the increased cell viability to the inhibition of ice crystal growth in the intercellular space, a finding consistent with ours.

At the same time, the literature suggests that PVA's cryoprotective efficacy may be cell-specific. In particular, it has been shown that for platelets, the addition of PVA does not lead to a significant increase in survival after freezing, which is attributed to other cell-specific damage mechanisms unrelated to ice recrystallization [21]. This underscores that the cryoprotective effect of PVA is most effectively realized in systems where ice recrystallization is the determining factor of cryodamage, particularly for erythrocytes.

Thus, the results of our own studies, combined with data from the literature, confirm that PVA with a molecular weight of 9 kDa is a macromolecular compound that can be used as a component of cryoprotective media for the cryopreservation of human erythrocytes to inhibit recrystallization processes. Its cryoprotective effect is primarily realized under conditions of controlled slow cooling, which must be taken into account when developing protocols for the low-temperature storage of blood cell components.

Conclusions.

Thermomechanical analysis has shown that the addition of PVA with a molecular weight of 9 kDa to PSB leads to concentration-dependent inhibition of ice recrystallization. At PVA concentrations of approximately 1%, recrystallization processes are practically absent, indicating high IRI activity of the polymer.

Under uncontrolled rapid cooling by immersion in liquid nitrogen, complete erythrocyte hemolysis occurs regardless of PVA concentration. The best preservation of erythrocytes was achieved during slow programmed cooling at a rate of 3°C/min in the presence of a 1% PVA solution, at which the hemolysis level after thawing did not exceed (1.2±0.5)%. The results indicate that PVA is a promising component of cryoprotective media for the cryopreservation of human red blood cells under controlled, slow cooling conditions.

Prospects for further research.

Further research should focus on developing multicomponent cryoprotective media containing PVA in combination with other intracellular cryoprotectants, aiming to reduce their concentrations and improve overall cryoprotection effectiveness for biological samples during cryopreservation.

A promising area of study is the effect of PVA molecular weight and concentration on red blood cell viability after freeze-thaw cycles due to the inhibition of ice recrystallization, as well as the investigation of the osmotic and rheological properties of cryoprotective solutions containing PVA.

The results obtained can serve as a scientific basis for optimizing cryopreservation protocols for blood cell components and expanding the use of PVA in low-temperature storage technologies for biological objects.

DOI 10.29254/2077-4214-2026-1-180-171-181

УДК 678.744.7:612.111.014.43:57.086.13

Гвоздюк Я. В., Селюта А. А., Полякова Г. Л., Гуріна Т. М.

ВИКОРИСТАННЯ ПОЛІВІНІЛОВОГО СПИРТУ У СКЛАДІ КРІОЗАХИСНОГО РОЗЧИНУ ПРИ КРІОКОНСЕРВУВАННІ ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ

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

poliakova79ann@gmail.com

Кріоконсервування еритроцитів є основним методом довгострокового зберігання клітинних компонентів крові, однак ефективність цього процесу обмежується ушкодженнями, зумовленими утворенням і рекристалізацією кристалів льоду. Перспективним підходом до зменшення кріоушкоджень є використання макромолекулярних непроникних кріопротекторів, зокрема полівінілового спирту (ПВС). Мета роботи – дослідити вплив ПВС з молекулярною масою 9 кДа різної концентрації на процеси рекристалізації льоду та оцінити його ефективність при кріоконсервуванні еритроцитів людини. Об'єктом дослідження були еритроцити людини, отримані з донорської крові. Використовували розчини ПВС на фосфатно-сольовому буфері у концентраціях від 0,1 до 1,5%. Фазові перетворення та рекристалізацію льоду досліджували методом термомеханічного аналізу. Використані режими кріоконсервування відрізнялися швидкостями охолодження та мали однакову швидкість нагрівання. Збереженість еритроцитів людини оцінювали за рівнем гемолізу. Встановлено, що підвищення концентрації ПВС сприяє ефективному інгібуванню рекристалізації льоду, а при концентрації близько 1% цей процес майже повністю пригнічується. Показано, що при неконтрольованому охолодженні відбувається повний гемоліз еритроцитів. Найкраща збереженість клітин досягалася при повільному контрольованому охолодженні зі швидкістю 3 град/хв у 1% розчині ПВС. Полівініловий спирт має кріозахисну активність та є перспективним компонентом кріозахисних середовищ для кріоконсервування еритроцитів людини за умов повільного контрольованого охолодження.

Ключові слова: кріоконсервування, фазові перетворення, рекристалізація льоду, полівініловий спирт, еритроцити людини.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Запропоноване дослідження є фрагментом НДР «Вплив гелеутворюючих полісахаридів природного походження на кріопротекторну дію кріозахисних розчинів» (номер державної реєстрації 0125U004150) Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

Вступ.

Збереження біологічного матеріалу завжди залишається фундаментальним напрямком для сучасних біотехнологій та практичної медицини. Основні принципи більшості методів збереження як правило базуються на зниженні температури, яке забезпечує тривале зберігання шляхом уповільнення залежного від температури метаболізму живих організмів

[1]. Незмінним залишається той факт, що біологічні об'єкти в основному складаються з води, яка за низьких температур перетворюється на кристали льоду. Це в свою чергу призводить до зневоднення та летального пошкодження біологічного матеріалу, що на сьогоднішній день є однією з найбільших проблем кріоконсервування клітин, тканин та органів [2].

Кріоконсервування як один із сучасних способів збереження біологічних об'єктів є важливим для подальшого практичного застосування. Однак утворення та зростання кристалів льоду під час процедури заморожування – відтавання призводить до зниження життєздатності біоматеріалу, що є домінуючим фактором пошкодження і найбільшою проблемою кріоконсервування. Тому впровадження способів контролю росту кристалів льоду при охолодженні та

інгібування процесу їх рекристалізації під час нагрівання мають вирішальне значення для мінімізації пошкодження клітин [3].

Для збереження структурної цілісності та біологічної активності матеріалу, що заморожується, важливо підібрати високоефективні криозахисні розчини з вмістом сучасних криопротекторних речовин [4]. Хімічний склад криопротекторного розчину відіграє важливу роль для успішного криоконсервування різних біологічних зразків [5].

На сьогоднішній день проникні маломолекулярні криопротектори, такі як гліцерин і диметилсульфоксид, є домінуючими складовими при створенні захисних розчинів для низькотемпературного зберігання. Однак при практичному використанні вони мають негативний вплив на клітини та організм людини в цілому і таким чином потребують подальшого видалення. З огляду на це увагу вчених все більше привертають непроникні криопротектори, які діють у позаклітинному просторі. Мембранотропні макромолекулярні криопротектори, які забезпечують стабілізацію мембрани проти криоушкодження та легко видаляються після розморожування, є перспективними домішками до криозахисних розчинів [4]. Одним із найпоширеніших їх представників є полівініловий спирт (ПВС), який має значний потенціал як інгібітор росту кристалів льоду (IRI) [6, 7]. В роботі [8] описано використання ПВС для криоконсервування червоних кров'яних тілець, кількох видів ядерних клітин та мікроорганізмів. Не один рік вже ведуться роботи з криоконсервування еритроцитів, в яких описуються використання комбінованих криопротекторних розчинів з додаванням синтетичного полімеру ПВС [9, 10].

Криоконсервування залишається основним способом довгострокового зберігання клітинних компонентів крові для забезпечення потреб практичної медицини, трансфузіології, поповнення запасів банків крові.

Приймаючи до уваги перспективність використання ПВС в якості речовини, що подавляє рекристалізацію льоду актуальним є дослідження можливості застосування розчинів ПВС як самостійного криопротекторного середовища.

Мета дослідження.

Дослідження процесу рекристалізації льоду в криозахисних розчинах з вмістом ПВС з молекулярною масою 9 кДа різної концентрації та ефективність їх використання під час криоконсервування еритроцитів людини.

Об'єкт і методи дослідження.

Об'єктом дослідження був еритроконцентрат, отриманий з донорської крові людини групи А (II), заготовленої на гемоконсерванті «Глюгіцир» у КНП ХОР «ОЦСК», яка зберігалась не більше 48 годин за температури $(4\pm 2)^\circ\text{C}$. Еритроконцентрат отримували центрифугуванням консервованої донорської крові за 1250 g протягом 25 хв.

У роботі використовували розчини ПВС (м. м. 9 кДа) (Sigma-Aldrich, США) у концентраціях 0,1; 0,2; 0,5; 1 та 1,5%. Для експериментальних досліджень розчини готували ваговим методом на основі 0,1 М фосфатно-сольового буфера (ФСБ, рН 7,4) і виражали в масових відсотках (мас. %). В експерименті

використовували після 24-годинної витримки за температури $(20\pm 2)^\circ\text{C}$.

Для дослідження впливу розчинів ПВС на перебіг рекристалізації льоду під час відтавання біологічних об'єктів використовували термомеханічний аналіз [11]. Зразок об'ємом $0,5\cdot 10^{-6}\text{ м}^3$ поміщали в деформуєчий пристрій, охолоджували зі швидкостями 3 град/хв або 20 град/хв до температури -160°C , прикладали зовнішню деформуєчу напругу ($\sigma=0,66\cdot 10^5\text{ кг/м}^2$), потім нагрівали зі швидкістю 1 град/хв та реєстрували термомеханічну криву (ТМА-крива). Температурні інтервали фазово-структурних перетворень у зразках визначали за відхиленням експериментальної кривої від дотичних, проведених до ділянок ТМА-кривої з постійною швидкістю перебігу [12-14].

Концентрацію вільного гемоглобіну в надосадовій рідині і загального гемоглобіну клітинної суспензії визначали гемоглобінціанідним методом за допомогою набору «Гемоглобін Спл 200» (Україна), показник гематокриту – на центрифугі СМ-70 (Elmi, Латвія), процент гемолізу еритроцитів в надосаді розраховували, як описано в роботі [15].

При дослідженні цитотоксичної і криозахисної дії ПВС на еритроцити людини до еритроконцентрату по краплях на протязі 5 хв за температури $(20\pm 2)^\circ\text{C}$ додавали криозахисні розчини у співвідношенні 1:1 за об'ємом. Криопротекторну дію розчинів ПВС досліджували в діапазоні концентрацій від 0,1 до 1%, тривалість експозиції еритроцитів у криозахисних розчинах становила 10 хв. Контролем були еритроцити, які додавали у ФСБ в співвідношенні 1:1 (за об'ємом).

Частину зразків заморожували в мікропробірках об'ємом 2 мл (Еппендорф, Україна) з неконтрольованою швидкістю шляхом занурення в рідкий азот, зберігали за температури -196°C протягом від 1 до 3 тижнів. Інші зразки заморожували у програмному заморозувачі «УОП-6» (ДВ ІПКІК НАН України) із контрольованими швидкостями охолодження 1 та 3 град/хв. Зразки відтаювали на водяній бані за температури $(40\pm 2)^\circ\text{C}$ при постійному похитуванні контейнерів.

Результати дослідження та їх обговорення.

Основним фактором криоушкодження клітин під час заморожування – відтавання є утворення та зростання кристалів льоду при охолодженні та подальше збільшення їх розмірів під час процесу рекристалізації на етапі нагрівання. Саме рекристалізація льоду призводить до механічного пошкодження клітинних мембран, порушення осмотичної рівноваги та, як наслідок, до гемолізу еритроцитів. У зв'язку з цим першочерговим завданням дослідження було вивчення впливу ПВС на перебіг рекристалізаційних процесів у криозахисних розчинах.

Фосфатно-сольовий буфер є компонентом криозахисного розчину, що містить основну кількість вільної води, яка в свою чергу обумовлює наявність та інтенсивність протікання процесу рекристалізації. Тому на першому етапі аналізували фазово-структурні перетворення у ФСБ, приділяючи особливу увагу процесу рекристалізації. Потім до ФСБ додавали ПВС і спостерігали як збільшення його концентрації впливає на інтенсивність рекристалізаційного перетворення.

На **рис. (а-е)** зображено ТМА-криві ФСБ та розчинів ФСБ з додаванням ПВС різної концентрації, отриманих за різних швидкостей охолодження (3 та 20 град/хв).

З огляду на те, що інтенсивність рекристалізації льоду на етапі нагрівання залежить від швидкості попереднього охолодження, для підтвердження перебігу цього процесу в зразках було застосовано різні швидкості охолодження (3 та 20 град/хв). Відомо, що кожному плавленню твердої фази передує відповідний рекристалізаційний процес тієї фракції, яка надалі плавиться [16-18].

За даними термомеханічного аналізу (рис., а) у ФСБ на етапі нагрівання в діапазоні температур від -30 до -22°C спостерігається перегин, пов'язаний із рекристалізацією перед плавленням евтектики ФСБ. Далі нахил ТМА-кривої знову змінюється відповідно наступному фазовому перетворенню, а саме плавленню евтектики ФСБ. Додавання ПВС призводить до суттєвих змін характерних перегинів на ТМА-кривих. Вже за низької концентрації ПВС (0,1%) ознаки рекристалізації евтектики ФСБ на етапі нагрівання зникають, що свідчить про здатність ПВС ефективно пригнічувати цей процес навіть у малих концентраціях. Це узгоджується з експериментальними даними для зразків з ПВС, у яких відповідний перегин у зазначеному температурному інтервалі (від -30 до -22°C) відсутній (рис., б-е). В той же час у ФСБ (рис., а) спостерігається чітко виражена ділянка рекристалізації льоду, яка проявляється характерним перегином ТМА-кривої у температурному інтервалі від -21 до -15°C та добре узгоджується з літературними даними про високу схильність водних буферних систем до росту кристалів льоду [1, 2]. Потім процес рекристалізації льоду поступово переходить у фазове перетворення, що відповідає його плавленню (температурний інтервал від -15 до -5°C). Зі зростанням швидкості охолодження зразків на ТМА-кривих перегин, який відповідає рекристалізаційним перетворенням льоду, є більш виражений. Отримані результати корелюють із даними, наведеними в роботах Thorat A. та Suryanarayana R. [19] і Han B. та співавт. [20], де також було досліджено фазово-структурні перетворення у ФСБ такими методами, як кріомікроскопія, диференціальна скануюча калориметрія, рентгенівська дифракція та термічний аналіз.

Додавання ПВС до ФСБ призводить до концентраційно-залежного зниження інтенсивності рекристалізації льоду, при цьому температурний інтервал перебігу цього процесу залишається незмінним. Вже за концентрацій від 0,2 до 0,5% ПВС відмічається зниження інтенсивності рекристалізації, а за концентрацій ПВС від 1 до 1,5% ознаки такого перетворення на ТМА-кривих практично зникають (рис., е), що свідчить про ефективне інгібування росту кристалів льоду під час нагрівання за рахунок додавання ПВС.

Отримані дані узгоджуються з сучасними уявленнями про механізм дії ПВС як інгібітора процесу рекристалізації, подібно до природних антифризних білків, який полягає у специфічній адсорбції макромолекул полімеру на поверхні кристалів льоду та блокуванні їх подальшого росту [6, 7]. Механізм інгібування рекристалізації льоду ПВС пов'язують із формуванням водневих зв'язків між гідроксильними групами полімеру та поверхнею льоду, що перешкоджає процесу рекристалізації [6, 7]. Отримані нами дані щодо пригнічення рекристалізації льоду при концентраціях ПВС близько 1% добре узгоджуються з результатами Dyubko T. та співавт. [7], які показали,

що ПВС з молекулярною масою 9 кДа ефективно модифікує процеси кристалізації та росту льоду в водяних розчинах.

Враховуючи можливий розвиток небажаних осмотичних і в'язкісних ефектів при підвищенні концентрації полімеру, для подальших біологічних досліджень було обрано концентраційний діапазон ПВС до 1%. Окрім того, такі концентрації не призводять до накопичення токсичного ефекту від використання ПВС.

На наступному етапі досліджено кріозахисну ефективність розчинів ПВС під час заморожування еритроцитів людини. Показано, що при неконтрольованому швидкому охолодженні шляхом безпосереднього занурення зразків у рідкий азот спостерігався повний гемоліз еритроцитів незалежно від концентрації ПВС (від 0,1 до 1%). Це свідчить про те, що за умов високих швидкостей охолодження основним механізмом ушкодження клітин є внутрішньоклітинне льодоутворення, яке не може бути попереджене лише інгібуванням рекристалізації льоду у позаклітинному просторі.

Натомість при повільному контрольованому охолодженні зі швидкостями 1 та 3 град/хв було встановлено чітку залежність між концентрацією ПВС та збереженістю еритроцитів після відтавання. У таблиці наведені дані щодо збереженості еритроцитів після кріоконсервування з різними концентраціями ПВС у кріозахисному розчині та за різних повільних швидкостей охолодження (1 та 3 град/хв).

Таблиця – Збереженість еритроцитів при охолодженні зі швидкістю 1 та 3 град/хв в розчині ПВС

Речовина	Концентрація ПВС, %	Гемоліз, %
Контроль	–	0,02±0,01
швидкість охолодження 1 град/хв		
Розчини ПВС у фосфатному буфері	0,1	100
	0,2	100
	0,5	92,4±5,1
	1	84,9±2,1
швидкість охолодження 3 град/хв		
Розчини ПВС у фосфатному буфері	0,1	100
	0,2	100
	0,5	15±5,0
	1	1,2±0,5

При швидкості охолодження 1 град/хв у 0,1 та 0,2% розчинах ПВС еритроцити повністю гемолізували, тоді як підвищення концентрації полімеру до 0,5 і 1% дозволяло зменшити рівень гемолізу до (91,4±5,1)% та (84,9±2,1)% відповідно, однак збереженість клітин залишалась недостатньою для практичного застосування. Найкращі результати були отримані при охолодженні еритроцитів зі швидкістю 3 град/хв. За таких умов у 0,5% розчині ПВС рівень гемолізу становив (15±5)%, тоді як у 1% розчині ПВС кількість зруйнованих клітин знижувалась до (1,2±0,5)%. Така висока збереженість еритроцитів свідчить про ефективну кріозахисну дію ПВС за умов повільного охолодження, що, ймовірно, пов'язано з оптимальним балансом між дегідратацією клітин, зменшенням об'єму

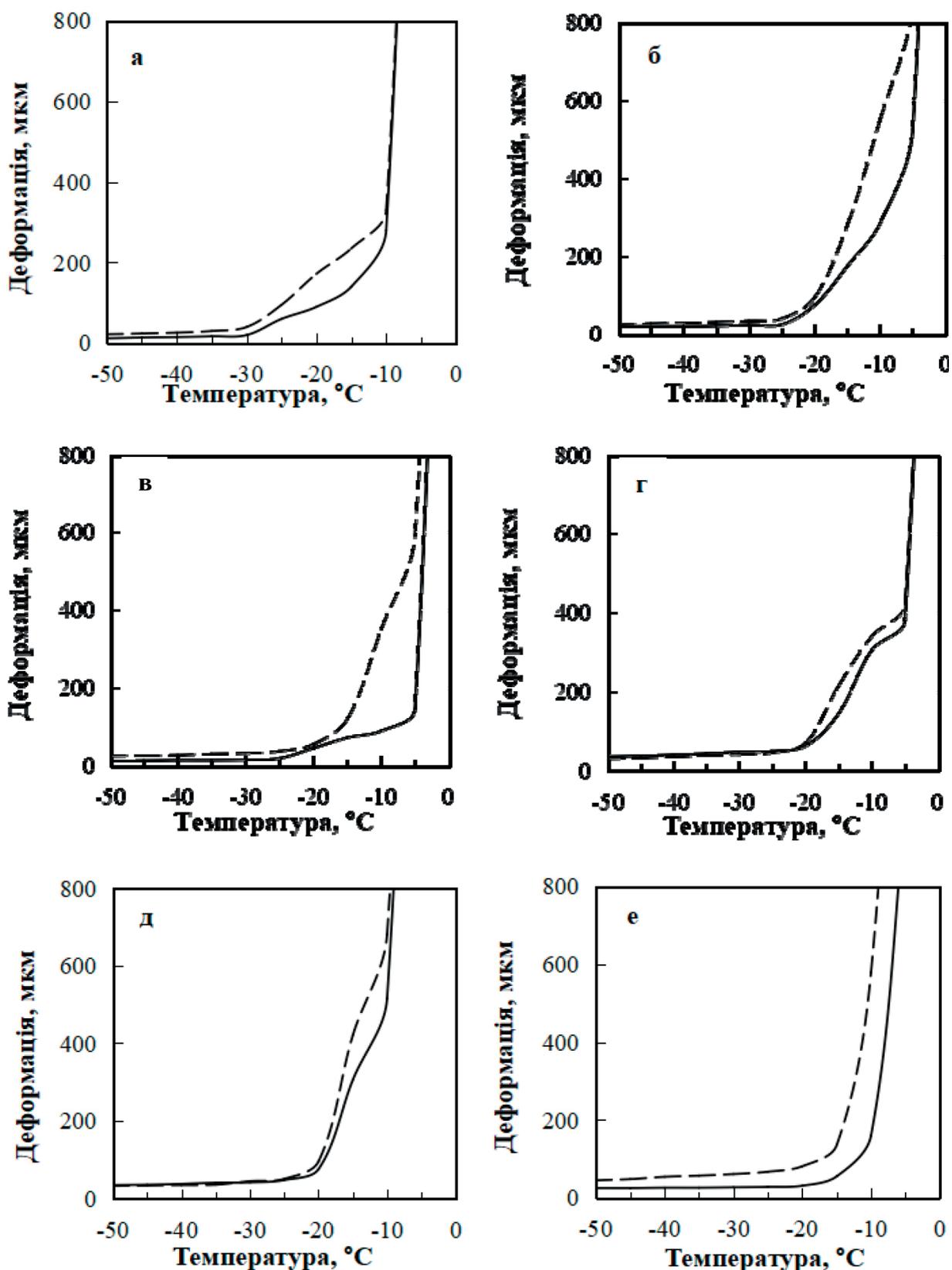


Рисунок – ТМА-криві ФСБ (а) та розчинів ФСБ з додаванням ПВС (б – 0,1%, в – 0,2%, г – 0,5%, д – 1%, е – 1,5% відповідно) за однакових умов експерименту: швидкість охолодження 3 град/хв (криві - -) або 20 град/хв (криві —), швидкість нагрівання 1 град/хв.

вільної води та пригніченням процесів рекристалізації льоду.

Подібні результати описані Deller R. та співавт. [9], які показали можливість ефективного криоконсервування еритроцитів із використанням полімерів – IRI

без застосування гліцерину. Автори теж пов'язують підвищену збереженість клітин із пригніченням росту кристалів льоду в міжклітинному просторі, що узгоджується з отриманими нами даними.

Водночас літературні дані свідчать, що ефективність ПВС як криопротектора може бути клітинно-специфічною. Зокрема, показано, що для тромбоцитів додавання ПВС не призводить до суттєвого підвищення збереженості після заморожування, що пов'язують з іншими специфічними для даних клітин механізмами ушкодження, не пов'язаними з рекристалізацією льоду [21]. Це підкреслює, що криозахисна дія ПВС найбільш ефективно реалізується саме в системах, де рекристалізація льоду є визначальним фактором криоушкодження, зокрема для еритроцитів.

Таким чином, результати власних досліджень у поєднанні з даними літератури підтверджують, що ПВС з молекулярною масою 9 кДа є макромолекулярною сполукою, яка може бути використана у складі криозахисних середовищ для криоконсервування еритроцитів людини з метою інгібування рекристалізаційних процесів. Його криозахисна дія реалізується переважно за умов контрольованого повільного охолодження, що необхідно враховувати при розробці протоколів низькотемпературного зберігання клітинних компонентів крові.

Висновки.

Методом термомеханічного аналізу показано, що додавання ПВС з молекулярною масою 9 кДа до ФСБ призводить до концентраційно-залежного інгібування рекристалізації льоду. При концентраціях ПВС близько 1% рекристалізаційні перетворення практично відсутні, що свідчить про високу IRI-активність полімеру.

Встановлено, що за умов неконтрольованого швидкого охолодження шляхом занурення у рідкий азот спостерігається повний гемоліз еритроцитів незалежно від концентрації ПВС. Найкраща збереженість еритроцитів досягалася при повільному програмному охолодженні зі швидкістю 3 град/хв у присутності 1% розчину ПВС, при якому рівень гемолізу після відтавання не перевищував (1,2±0,5)%. Отримані результати свідчать, що ПВС є перспективним компонентом криозахисних середовищ для криоконсервування еритроцитів людини за умов контрольованого повільного охолодження.

Перспективи подальших досліджень.

Подальші дослідження доцільно спрямувати на розробку багатокомпонентних криозахисних середовищ, що містять ПВС у поєднанні з іншими ендоцелюлярними криопротекторами з метою зниження їх концентрацій і підвищення загальної ефективності криозахисту біологічних об'єктів під час їх криоконсервування.

Перспективним є вивчення впливу молекулярної маси та концентрацій ПВС на збереженість еритроцитів після заморожування – відтавання в наслідок інгібування рекристалізації льоду, а також дослідження осмотичних і реологічних властивостей криозахисних розчинів з вмістом ПВС.

Отримані результати можуть бути використані як наукове підґрунтя для оптимізації протоколів криоконсервування клітинних компонентів крові та розширення застосування ПВС у технологіях низькотемпературного зберігання біологічних об'єктів.

References / Література

- Lin M, Cao H, Meng Q, Li J, Jiang P. Insights into the crystallization and vitrification of cryopreserved cells. *Cryobiology*. 2022;106:13-23. DOI: [10.1016/j.cryobiol.2022.04.008](https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2022.04.008).
- Dan N, Shelake S, Luo WC, Rahman M, Lu J, Bogner RH, et al. Impact of controlled ice nucleation on intracellular dehydration, ice formation and their implications on T cell freeze-thaw viability. *International Journal of Pharmaceutics*. 2024;665:124694. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2024.124694](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124694).
- Zhao Y, Lu H, Qi D, Motta A, Fröhlich-Nowoisky J, Chen J, et al. Ice recrystallization inhibition activity of silk proteins. *The Journal of Physical Chemistry Letters*. 2023;14(36):8145-50. DOI: [10.1021/acs.jpcl.3c01995](https://doi.org/10.1021/acs.jpcl.3c01995).
- Yuan L, Chen B, Zhu K, Ren L, Yuan X. Development of macromolecular cryoprotectants for cryopreservation of cells. *Macromolecular Rapid Communications*. 2024;45(19):e2400309. DOI: [10.1002/marc.202400309](https://doi.org/10.1002/marc.202400309).
- Murray KA, Gibson MI. Chemical approaches to cryopreservation. *Nature Reviews Chemistry*. 2022;6(8):579-593. DOI: [10.1038/s41570-022-00407-4](https://doi.org/10.1038/s41570-022-00407-4).
- Knight CA, Wen D, Laursen RA. Nonequilibrium antifreeze peptides and the recrystallization of ice. *Cryobiology*. 1995;32(1):23-34. DOI: [10.1006/cryo.1995.1002](https://doi.org/10.1006/cryo.1995.1002).
- Dyubko TS, Pivovarenko VG, Kuleshova LG, Chekanova VV, Hvozdiuk YV, Pakhomova YS, et al. The mechanism of influence of polyvinyl alcohol (9kDa) on the formation of ice crystals in aqueous solutions. *Low Temperature Physics*. 2022;48(9):734-40. DOI: [10.1063/1.5013309](https://doi.org/10.1063/1.5013309).
- Jiang P, Li Q, Liu B, Liang W. Effect of cryoprotectant-induced intracellular ice formation and crystallinity on bacteria during cryopreservation. *Cryobiology*. 2023;113:104786. DOI: [10.1016/j.cryobiol.2023.104786](https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2023.104786).
- Deller RC, Vatish M, Mitchell DA, Gibson MI. Glycerol-free cryopreservation of red blood cells enabled by ice-recrystallization-inhibiting polymers. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2015;1(9):789-94. DOI: [10.1021/acsbiomaterials.5b00162](https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.5b00162).
- Osetsy O, Pakhomova Y, Chekanova V, Hvozdiuk Y. Role of polyvinyl alcohol in cryoprotective media: evaluating efficiency and limitations in erythrocyte freezing. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 2025;35(1):14-22. DOI: [10.15407/cryo35.01.014](https://doi.org/10.15407/cryo35.01.014).
- Sabu T, Thomas R, Zachariah AK, Mishra RK, editors. Thermal and rheological measurement techniques for nanomaterials characterization. Amsterdam: Elsevier; 2017. Chapter, Thermomechanical analysis and its applications; In: p. 159-71. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46139-9.00007-4>
- Pakhomov O, Gurina T, Mazaeva V, Polyakova A, Deng B, Legach E, et al. Phase transitions and mechanisms of cryoprotection of serum-/xeno-free media based on dextran and dimethyl sulfoxide. *Cryobiology*. 2022;107:13-22. DOI: [10.1016/j.cryobiol.2022.06.004](https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2022.06.004).
- Pakhomov O, Gurina T, Polyakova A, Mazaeva V, Deng B, Bozhok G. Study of physical processes occurring in serum-containing and polymer-based serum-free cryoprotective media. *Biopolymers and Cell*. 2024;40(1):37-46. DOI: [10.7124/bc.000AAC](https://doi.org/10.7124/bc.000AAC).
- Bobrova O, Falko O, Polyakova A, Klochkov V, Faltus M, Chizhevskiy V. Nanocrystalline cerium dioxide reduces recrystallization in cryopreservation solutions. *Cryobiology*. 2025;118:105167. DOI: [10.1016/j.cryobiol.2024.105167](https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2024.105167).
- Perekhrestenko PM, Nazarchuk LV, Chuhriev AM, Tereshchuk TO, Mazurkevych IA. Quality control of erythrocyte-containing media: Methodological guidelines. Kyiv: [s.n.]; 2012. 31 p.
- Gurina TM, Kirilyuk AL. Temperature ranges of phase transformations in the cryoprotective media components determined by thermoplastic deformation method. *Problems of cryobiology*. 2012;22(4): 410-22.
- Humphreys FJ, Hatherly M. Recrystallization and related annealing phenomena. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier; 2004. 628 p. DOI: [10.1016/B978-0-08-044164-1.X5000-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-044164-1.X5000-2).
- Furushima Y, Toda A, Rousseaux V, Schick C. Crystallization, recrystallization, and melting of polymer crystals on heating and cooling examined with fast scanning calorimetry. *Polymer Crystallization*. 2018;1:e10005. DOI: [10.1002/pcr2.10005](https://doi.org/10.1002/pcr2.10005).

19. Thorat AA, Suryanarayanan R. Characterization of phosphate buffered saline (PBS) in frozen state and after freeze-drying. *Pharmaceutical research*. 2019;36(7):98. DOI: [10.1007/s11095-019-2619-2](https://doi.org/10.1007/s11095-019-2619-2).
20. Han B, Devireddy RV, Bischof JC. Phase change behavior of biomedically relevant solutions. *Proceedings of the ASME 2002 international mechanical engineering congress & exposition*; 2002 Nov 17-22; New Orleans, LA: American Society of Mechanical Engineers; 2002. p. 67-75. DOI: [10.1115/IMECE2002-32549](https://doi.org/10.1115/IMECE2002-32549).
21. Six KR, Lyssens S, Devloo R, Comperolle V, Feys HB. The ice recrystallization inhibitor polyvinyl alcohol does not improve platelet cryopreservation. *Transfusion*. 2019;59(9):3029-31. DOI: [10.1111/trf.15395](https://doi.org/10.1111/trf.15395).

ВИКОРИСТАННЯ ПОЛІВІНІЛОВОГО СПИРТУ У СКЛАДІ КРІОЗАХИСНОГО РОЗЧИНУ ПРИ КРІОКОНСЕРВУВАННІ ЕРИТРОЦИТІВ ЛЮДИНИ

Гвоздюк Я. В., Селюта А. А., Полякова Г. Л., Гуріна Т. М.

Резюме. Кріоконсервування клітинних компонентів крові є важливим напрямом сучасної біомедицини та трансфузіології, проте ефективність цього процесу значною мірою обмежується ушкодженнями клітин, пов'язаними з утворенням і рекристалізацією кристалів льоду під час заморожування – відтавання. Традиційні проникні кріопротектори, такі як гліцерин або диметилсульфоксид, хоча й забезпечують захист клітин, однак характеризуються цитотоксичністю та потребують складних процедур видалення після розморожування. У зв'язку з цим актуальним є пошук альтернативних непроникних кріопротекторів, здатних ефективно інгібувати ріст і рекристалізацію льоду у позаклітинному просторі. У представленій роботі досліджено можливість використання полівінілового спирту (ПВС) з молекулярною масою 9 кДа як компонента кріозахисного розчину для кріоконсервування еритроцитів людини. Вивчено вплив концентрацій ПВС у діапазоні від 0,1 до 1,5% на перебіг фазово-структурних перетворень у водних розчинах та залежність збереженості еритроцитів після заморожування – відтавання від цього показника. Для аналізу рекристалізації льоду застосовували метод термомеханічного аналізу. Визначали температурні інтервали фазових перетворень і оцінювали інгібуючу дію ПВС на рекристалізаційні процеси.

Показано, що збільшення концентрації ПВС у фосфатно-сольовому буфері призводить до поступового пригнічення рекристалізації льоду, а за концентрацій від 1 до 1,5% відбувається майже повне інгібування цього явища. Дослідження кріозахисної дії ПВС на еритроцити людини свідчить, що ефективність захисту клітин залежить від швидкості охолодження. При неконтрольованому охолодженні шляхом занурення у рідкий азот спостерігався повний гемоліз клітин незалежно від концентрації ПВС. Водночас при повільному програмному охолодженні зі швидкістю 3 град/хв у розчинах 0,5 та 1% ПВС досягнуто високого рівня збереженості еритроцитів. Мінімальний гемоліз зафіксовано у 1% розчині ПВС.

Отримані результати свідчать, що ПВС є нетоксичною макромолекулярною сполукою, здатною проявляти кріозахисні властивості шляхом інгібування рекристалізації льоду. Застосування ПВС як самостійної речовини або у складі багатокомпонентних кріозахисних середовищ є перспективним напрямом для вдосконалення методів кріоконсервування еритроцитів людини.

Ключові слова: кріоконсервування, фазові перетворення, рекристалізація льоду, полівініловий спирт, еритроцити людини.

USE OF POLYVINYL ALCOHOL AS A COMPONENT OF CRYOPRESERVATIVE SOLUTION TO CRYOPRESERVE HUMAN ERYTHROCYTES

Hvozdiuk Ya. V., Seliuta A. A., Poliakova H. L., Gurina T. M.

Abstract. Cryopreservation of cell blood components is an important direction of modern biomedicine and transfusion medicine; however, the effectiveness of this process is largely limited by cell damage associated with the formation and recrystallization of ice crystals during freeze-thawing. Traditional permeable cryoprotectants, such as glycerol or dimethyl sulfoxide, although they provide cell protection, are characterized by cytotoxicity and require complicated removal procedures after thawing. In this regard, the search for alternative impermeable cryoprotectants capable of effectively inhibiting the ice growth and recrystallization in the extracellular space is relevant. In this research the possibility of using polyvinyl alcohol (PVA) with a molecular weight of 9 kDa as a component of a cryoprotectant solution for cryopreservation of human erythrocytes was investigated. The effect of PVA concentrations in the range from 0.1 to 1.5% on the course of phase-structural transformations in aqueous solutions and the dependence of erythrocyte preservation after freeze-thawing on this parameter were studied. The method of thermomechanical analysis was used to analyze ice recrystallization. The temperature intervals of phase transformations were determined and the inhibitory effect of PVA on recrystallization processes was evaluated. Increased concentration of PVA in phosphate-saline buffer has been shown to lead to a gradual inhibition of ice recrystallization, and at concentrations from 1 to 1.5%, this phenomenon is almost completely inhibited.

The study of the cryoprotective effect of PVA on human erythrocytes shows that the effectiveness of cell protection depends on the cooling rate. With uncontrolled cooling by immersion in liquid nitrogen, complete hemolysis of cells was observed regardless of the PVA concentration. At the same time, with slow programmed cooling at a rate of 3 deg/min in 0.5 and 1% PVA solutions, a high level of erythrocyte preservation was achieved. Minimal hemolysis was recorded in 1% PVA solution.

The findings indicate that PVA is a non-toxic macromolecular compound capable of exhibiting cryoprotective properties by inhibiting ice recrystallization. The use of PVA as an independent substance or as part of multicomponent cryoprotective media is a promising direction for improving methods of cryopreservation of human erythrocytes.

Key words: cryopreservation, phase transition, ice recrystallization, polyvinyl alcohol, human erythrocytes.

ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:

Hvozdiuk Ya. V.: <https://orcid.org/0000-0001-9377-4678>^{BC}

Seliuta A. A.: <https://orcid.org/0000-0002-5633-7038>^{BC}

Poliakova H. L.: <https://orcid.org/0000-0002-8692-3820>^{BCD}

Gurina T. M.: <https://orcid.org/0000-0001-8204-7985>^{AEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The Authors declare no conflict of interest. / Автори статті заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Poliakova Hanna Leonidivna / Полякова Ганна Леонідівна

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine / Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України

Ukraine, 61016, Kharkiv, 23 Pereyaslavska str. / Україна, 61016, м. Харків, вул. Переяславська 23

Tel.: +380686079167 / Тел.: +380686079167

E-mail: poliakova79ann@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

This article is distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution (CC-BY) License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited © All authors, 2026 / Ця стаття розповсюджується на умовах ліцензії **Creative Commons Attribution (CC-BY)**, яка дозволяє необмежене використання, поширення та відтворення в будь-якому форматі за умови належного цитування оригінальної роботи © Всі автори, 2026

Received 11.10.2025 / Стаття надійшла 11.10.2025 року

Accepted 27.02.2026 / Стаття прийнята до друку 27.02.2026 року

Published 27.03.2026 / Опубліковано 27.03.2026 року

DOI 10.29254/2077-4214-2026-1-180-181-190

UDC 612.017:612.111:796.332.6-053.6

Dychko D. V., Dychko O. A., Kurylchenko I. Yu., Kushakova I. V., Klimenko Yu. S., Dychko V. V.

PHYSIOLOGICAL FEATURES OF ADAPTIVE STRESS IN YOUNG FEMALE FUTSAL PLAYERS

State higher educational institution «Donbas State Pedagogical University»

(Sloviansk - Dnipro, Ukraine)

v.v.dichko@ukr.net

Physical exertion in sports triggers a systemic reorganization of the body's regulatory mechanisms, which occurs through neuroendocrine and immune interactions and leads to the development of long-term functional adaptation. During adolescence, when growth and maturation are not yet complete, homeostatic stability is relatively fragile, increasing the risk of overexertion and the development of adaptive stress. This is particularly relevant for team sports, specifically futsal, which is characterized by high-intensity interval training, frequent changes in pace, and significant psycho-emotional stress.

The aim of the study was to assess the level of adaptive stress in 15- to 16-year-old female futsal players based on immunohaematological parameters of peripheral blood.

A group of athletes who train regularly and a control group of otherwise healthy peers without regular athletic training were examined. We determined the total white blood cell count and the white blood cell differential using the Romanovsky-Giemsa method, and calculated the integral adaptation index. Statistical significance was assessed using Student's t-test.

No statistically significant differences were found in total white blood cell count or red blood cell parameters between the groups. Female athletes showed an increase in the proportion of band neutrophils without the development of leukocytosis, indicating mobilization of the bone marrow reserve and training-induced activation of the immune system. The values of the adaptation index corresponded to control indicators, with a state of calm activation - characteristic of physiological adaptation - predominating.

Regular futsal training during adolescence contributes to the formation of an adequate adaptive response in the body without signs of chronic adaptive stress, confirming the safety of rationally dosed physical activity.

Key words: futsal, adolescents, adaptation, adaptive stress, immunohematological parameters.