

DOI: <https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-26-02>
УДК: 616.831-002+616-092.9+632.938+615.451.16+611.013



Енергетичний обмін та метаболічні зміни в головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин

Гладких Ф.В.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

Лядова Т.І.¹, <https://orcid.org/0000-0002-5892-2599>, e-mail: t.lyadova@karazin.ua

Матвєєнко М.С.¹, <https://orcid.org/0000-0002-0388-138X>, e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua

¹Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Міністерства освіти і науки України, Харків, Україна

²Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

Energy metabolism and metabolite changes in the brain of rats with experimental allergic encephalomyelitis under the influence of cryoextracts of placenta and spleen, and conditioned medium of mesenchymal stem cells

Hladkykh F.V.^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>, e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

Liadova T.I.¹, <https://orcid.org/0000-0002-5892-2599>, e-mail: t.lyadova@karazin.ua

Matvieienko M.S.¹, <https://orcid.org/0000-0002-0388-138X>, e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua

¹V.N. Karazin Kharkiv National University
of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

²State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

головний мозок, енцефаломієліт, енергетичний обмін, лактат, піруват, малат, кріоекстракт, плацента, аденозинтрифосфат.

Для кореспонденції:

Гладких Федір Володимирович
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України», відділ радіології;
вул. Григорія Сковороди, буд. 82,
м. Харків, Україна, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

© Гладких Ф.В., Лядова Т.І.,
Матвєєнко М.С., 2024

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Розсіяний склероз (РС) є глобальною проблемою, і її поширеність зростає. 0–15% хворих на РС мають прогресуючу інвалідність від самого початку, як правило, через ураження спинного мозку. Діапазон доступних методів лікування пацієнтів з РС постійно розширюється, оскільки дослідники прагнуть знайти нові шляхи для підвищення ефективності та безпеки терапії. На мозок, що становить лише 2% від загальної маси тіла, припадає приблизно 20% кисню та 25% глюкози, які споживаються організмом людини, а це означає надзвичайно високу швидкість метаболізму.

Мета роботи – охарактеризувати стан енергетичного обміну та метаболічних змін у головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення кріоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин

Матеріали та методи. Експериментальний алергічний енцефаломієліт (АЕМ) у щурів індукювали шляхом введення енцефалітогенної емульсії, яка містила повний ад'ювант Фрейнда та гомогенат алогогенного головного мозку. Вміст аденилових нуклеотидів – аденозинмонофосфорної кислоти (АМФ), аденозиндифосфорної кислоти (АДФ), аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) досліджували у депротейнізованому гомогенаті мозку хроматографічним методом. Вміст лактату, пірувату та малату визначали спектрофотометрично.

Результати та їх обговорення. У щурів з АЕМ рівень лактату в головному мозку був значно підвищений ($4,40 \pm 0,13$ мкмоль/г), порівняно з інтактними тваринами ($2,24 \pm 0,13$ мкмоль/г, $p < 0,001$). Лікування КЕС та КС-МСК призвело до зниження рівня лактату до $3,27 \pm 0,10$ мкмоль/г ($p < 0,001$) та $3,00 \pm 0,16$ мкмоль/г ($p < 0,001$) відповідно. Рівень пірувату знижувався на 54,1% у контрольній групі, але підвищувався після застосування КЕП ($p < 0,001$), хоча залишався нижчим за норму. КЕС і КС-МСК сприяли підвищенню пірувату, але ефект був менш виражений. У контрольній групі малат був знижений на 50% ($p = 0,001$), а після лікування КЕП рівень малату зріс до $0,30 \pm 0,03$ мкмоль/г ($p = 0,024$). Співвідно-

шення лактату до пірувату було значно підвищене у щурів контрольної групи (16,3 [14,3; 32,0] мкмоль/г), а лікування КС-МСК найбільш ефективно знижувало це співвідношення до 11,0 [8,0; 11,3] мкмоль/г тканини ($p < 0,001$).

Висновки. Зміни метаболічних показників у щурів з АЕМ свідчать про порушення енергетичних процесів у клітинах головного мозку, що проявляється у підвищенні рівня лактату, зниженні рівня пірувату та малату, а також активації анаеробного метаболізму. Лікування КЕП, КЕС і КС-МСК сприяло покращенню енергетичних процесів, зокрема зниженню рівня лактату і співвідношення лактату до пірувату, а також частковому відновленню енергетичних показників. Найбільш виражений ефект виявлений при застосуванні КС-МСК, який показав значне відновлення енергетичного балансу та потенціал для лікування порушень, викликаних АЕМ.

Для цитування:

Гладких Ф.В., Лядова Т.І., Матвієнко М.С. Енергетичний обмін та метаболічні зміни в головному мозку щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом на тлі введення криоекстрактів плаценти та селезінки, а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин. *Психіатрія, неврологія та медична психологія*. 2024. Т. 11, № 4(26). С. 361–378. DOI: <https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-26-02>

Key words:

brain, encephalomyelitis, energy metabolism, lactate, pyruvate, malate, cryoextract, placenta, adenosinetriphosphate.

For correspondence:

Hladkykh Fedir Volodymyrovych
State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Radiology Department;
82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, Ukraine, 61024;
e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

© *Hladkykh F.V., Liadova T.I., Matvieienko M.S., 2024*

ABSTRACT

Background. Multiple sclerosis (MS) is a global issue with increasing prevalence. 0–15% of people with MS have progressive disability from the onset, usually due to spinal cord involvement. The range of available treatments for patients with MS is continually expanding as researchers seek new ways to improve the effectiveness and safety of therapy. The brain, accounting for only 2% of the total body mass, consumes approximately 20% of the oxygen and 25% of the glucose taken in by the human body, indicating an extremely high metabolic rate.

Purpose – to characterize the state of energy metabolism and metabolic changes in the brain of rats with experimental allergic encephalomyelitis (EAE) in the context of the administration of placental and spleen cryoextracts, as well as mesenchymal stem cell-conditioned medium.

Materials and Methods. EAE in rats was induced by administering an encephalitogenic emulsion containing complete Freund's adjuvant and a homogenate of allogeneic brain. The content of adenyl nucleotides – adenosine monophosphate (AMP), adenosine diphosphate (ADP), and adenosine triphosphate (ATP) – was studied in deproteinized brain homogenate using chromatographic methods. The content of lactate, pyruvate, and malate was determined spectrophotometrically.

Results. In rats with EAE, the level of lactate in the brain was significantly elevated ($4.40 \pm 0.13 \mu\text{mol/g}$) compared to intact animals ($2.24 \pm 0.13 \mu\text{mol/g}$, $p < 0.001$). Treatment with placental cryoextract and stem cell-conditioned medium led to a decrease in lactate levels to $3.27 \pm 0.10 \mu\text{mol/g}$ ($p < 0.001$) and $3.00 \pm 0.16 \mu\text{mol/g}$ ($p < 0.001$), respectively. The level of pyruvate decreased by 54.1% in the control group but increased after the administration of placental cryoextract ($p < 0.001$), although it remained below normal. Treatment with spleen cryoextract and stem cell-conditioned medium promoted an increase in pyruvate levels, but the effect was less pronounced. In the control group, malate decreased by 50% ($p = 0.001$), but after treatment with placental cryoextract, the malate level increased to $0.30 \pm 0.03 \mu\text{mol/g}$ ($p = 0.024$). The lactate-to-pyruvate ratio was significantly elevated in the control group rats ($16.3 [14.3; 32.0] \mu\text{mol/g}$), and treatment with stem cell-conditioned medium most effectively reduced this ratio to $11.0 [8.0; 11.3] \mu\text{mol/g}$ tissue ($p < 0.001$).

Conclusions. Metabolic changes in rats with EAE indicate disturbances in the energy processes in brain cells, manifested by increased lactate levels, decreased pyruvate and malate levels, and activation of anaerobic metabolism. Treatment with placental and spleen cryoextracts and stem cell-conditioned medium improved energy processes, particularly by reducing lactate levels and the lactate-to-pyruvate ratio, as well as partially restoring energy indicators. The most pronounced effect was observed with the use of stem cell-conditioned medium, showing significant restoration of energy balance and potential for treating EAE-induced disorders.

For citation:

Hladkykh FV, Liadova TI, Matvieienko MS. Energy metabolism and metabolite changes in the brain of rats with experimental allergic encephalomyelitis under the influence of cryoextracts of placenta and spleen, and conditioned medium of mesenchymal stem cells. *Psychiatry, Neurology and Medical Psychology*. 2024;11(4(26)):361–378. DOI: <https://doi.org/10.26565/2312-5675-2024-26-02>

ВСТУП

INTRODUCTION

Розсіяний склероз (РС) є хронічним аутоімунним захворюванням, яке уражує центральну нервову систему (ЦНС) та характеризується двома патологічними ознаками: (1) запаленням з демієлінізацією та (2) астрогліальною проліферацією (гліозом) і нейродегенерацією [1, 2]. РС є глобальною проблемою, і її поширеність зростає [2, 3]. 10–15% хворих на РС мають прогресуючу інвалідність від самого початку, як правило, через ураження спинного мозку [4].

Діапазон доступних методів лікування пацієнтів з РС постійно розширюється, оскільки дослідники прагнуть знайти нові шляхи для підвищення ефективності та безпеки терапії. Активно тривають пошуки механізмів розвитку РС, що можуть стати основою для створення інноваційних лікарських засобів, які зможуть націлюватися на ці нові молекулярні мішені. Персоналізація лікування, що враховує індивідуальні особливості пацієнтів, є важливим кроком до оптимізації терапевтичного процесу. Водночас особливу увагу зосереджено на розробці методів лікування прогресуючої форми РС, де на даний момент існує обмежена кількість доступних варіантів терапії. Окрім того, активно проводяться дослідження щодо застосування стовбурових клітин, нейропротекторних препаратів та агентів, здатних сприяти ремієлінізації та відновленню нервових тканин, що може допомогти в усуненні пошкоджень, спричинених РС [3].

Нейротерапевтичний ландшафт РС швидко розвивається. Лікування РС можна розділити на три категорії: (1) лікування гострого рецидиву; (2) лікування, що модифікує захворювання та (3) симптоматичні методи лікування [4].

Загальна мета модифікації перебігу РС полягає у зменшенні ранньої клінічної та субклінічної активності захворювання, яка може сприяти довгостроковій непрацездатності. На сьогоднішній день до терапевтичних засобів, які модифікують перебіг РС та мають схвалення Європейського агентства з лікарських засобів або Управління з контролю за продуктами і ліками США, відносяться такі препарати: β -інтерферон-1 α (Avonex), β -інтерферон-1b (Бетаферон), глатирамеру ацетат (Сораксоне), мітоксантрон (Novantrone), β -інтерферон-1 α (Rebif), наталізумаб (Tysabri), терифлуномід (Aubagio), алемтузумаб (Lemtrada), фінголімод (Gilenya), диметилфумарат (Tecfidera), інтерферон бета 1b (Extavia), β -інтерферон-1 α (Plegridy) [4].

Значний прогрес у лікуванні всіх форм РС, особливо рецидивів, сприятливо змінив довгострокову перспективу для багатьох пацієнтів. Також відбувся концептуальний зсув у розумінні імунної патології РС, від моделі, опосередкованої виключно Т-клітинами, до визнання того, що В-клітини відіграють ключову роль у патогенезі [2].

Запалення тісно пов'язане з пошкодженням аксонів і нейронів при РС. Пошкодження аксонів помітно вже на ранніх стадіях ураження, тоді як втрата нейронів може початися рано, але стає більш очевидною у зразках тканин пацієнтів із прогресуючим захворюванням [5, 6]. Краще розуміння того, з чого складається нейродегенерація при РС, і механізму пошкодження може допомогти в розробці терапевтичних стратегій для її обмеження [6].

Multiple sclerosis (MS) is a chronic autoimmune disease affecting the central nervous system (CNS) and is characterized by two pathological features: (1) inflammation with demyelination and (2) astroglial proliferation (gliosis) and neurodegeneration [1, 2]. MS is a global problem, and its prevalence is increasing [2, 3]. Approximately 10–15% of MS patients experience progressive disability from the onset, usually due to spinal cord involvement [4].

The range of available treatment options for MS patients is constantly expanding as researchers strive to discover new ways to improve therapy's efficacy and safety. Efforts are underway to identify mechanisms of MS development that could serve as the basis for innovative drugs targeting these new molecular pathways. Personalization of treatment, considering individual patient characteristics, is a crucial step toward optimizing therapeutic processes. At the same time, particular attention is being directed at developing treatments for progressive MS, where the number of available therapeutic options is currently limited. Additionally, research is actively ongoing into the use of stem cells, neuroprotective agents, and compounds that promote remyelination and nervous tissue recovery, which may help address MS-induced damage [3].

The neurotherapeutic landscape of MS is rapidly evolving. MS treatments can be divided into three categories: (1) acute relapse management; (2) disease-modifying treatments; and (3) symptomatic therapy [4].

The primary goal of modifying the MS course is to reduce early clinical and subclinical disease activity, which may contribute to long-term disability. To date, therapeutic agents that modify the course of MS and have been approved by the European Medicines Agency or the U.S. Food and Drug Administration include: β -interferon-1 α (Avonex), β -interferon-1b (Betaseron), glatiramer acetate (Copaxone), mitoxantrone (Novantrone), β -interferon-1 α (Rebif), natalizumab (Tysabri), teriflunomide (Aubagio), alemtuzumab (Lemtrada), fingolimod (Gilenya), dimethyl fumarate (Tecfidera), interferon beta-1b (Extavia), and β -interferon-1 α (Plegridy) [4].

Significant progress in treating all forms of MS, especially relapses, has positively changed long-term outcomes for many patients. A conceptual shift has also occurred in understanding MS immunopathology, moving from a T-cell-mediated model to recognizing the key role of B cells in pathogenesis [2].

Inflammation is closely associated with axonal and neuronal damage in MS. Axonal damage is evident at the early stages of lesions, while neuronal loss may begin early but becomes more apparent in tissue samples from patients with progressive disease [5, 6]. A better understanding of the components of neurodegeneration in MS and the mechanisms of damage could aid in developing therapeutic strategies to limit it [6].

The CNS demonstrates unique metabolic features, including a relatively high resting metabolic rate and localized, activity-dependent fluctuations, distinct from other tissues. This is based on two key observations: (1) although the brain constitutes only 2% of total body mass, it accounts for approximately 20% of oxygen and 25% of glucose consumption, indicating an excep-

ЦНС демонструє унікальні метаболічні особливості з відносно високою швидкістю метаболізму в спокої та локальними, залежними від активності коливаннями, що відрізняються від інших тканин. Це уявлення ґрунтується на двох основних спостереженнях: (1) на мозок, що становить лише 2% від загальної маси тіла, припадає приблизно 20% кисню та 25% глюкози, які споживаються організмом людини, а це означає надзвичайно високу швидкість метаболізму та (2) утилізація глюкози мозком збільшується при локальній активності мозку [7].

Високий енергетичний попит, який демонструє мозок, необхідний для таких важливих процесів, як відновлення іонних градієнтів, які забезпечують передачу електричного сигналу та перешкоджають їй, або для поглинання та переробки нейромедіаторів [8, 9]. Отже, підтримка функції мозку передбачає підвищені метаболічні витрати, особливо враховуючи мільярди безперервних синаптичних передач, на які припадає до 80% загальної потреби в енергії, пов'язаної з функціонуванням нейронної мережі [8]. В той же час, коли вироблення АТФ не задовольняє потреби в енергії, зокрема при нейродегенеративних розладах, синапси виявляються більш вразливими до дисфункції та дегенерації [7].

Енергія використовується для виконання численних критичних завдань, включаючи відновлення мембранних потенціалів нейронів після деполаризації, аксоплазматичний транспорт, рециркуляцію везикул і синтез нейромедіаторів. Таким чином, енергетичні потреби не є рівномірно розподіленими, а залежать від ділянки та активності нейронів. Таким чином, регуляція клітинного енергетичного метаболізму та постачання метаболітів є критично важливою для підтримки нормальної функції мозку і нейронів, оскільки споживання енергії є високим і динамічним процесом [9, 10].

Мета роботи – охарактеризувати стан енергетичного обміну та метаболічних змін у головному мозку (ГМ) щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом (АЕМ) на тлі введення кріоекстрактів плаценти (КЕП) та селезінки (КЕС), а також кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК).

tionally high metabolic rate, and (2) glucose utilization in the brain increases with localized activity [7].

The brain's high energy demand is essential for vital processes, such as restoring ionic gradients that enable or inhibit electrical signaling and for the uptake and recycling of neurotransmitters [8, 9]. Thus, maintaining brain function involves substantial metabolic costs, especially considering the billions of continuous synaptic transmissions, which account for up to 80% of the energy required for neural network function [8]. When ATP production fails to meet energy demands, particularly in neurodegenerative disorders, synapses become more vulnerable to dysfunction and degeneration [7].

Energy is used to perform critical tasks, including restoring neuronal membrane potentials after depolarization, axoplasmic transport, vesicle recycling, and neurotransmitter synthesis. Energy demands are not evenly distributed but depend on neuronal location and activity. Thus, the regulation of cellular energy metabolism and metabolite supply is crucial for maintaining normal brain and neuronal function, as energy consumption is a highly dynamic process [9, 10].

Objective – of the study is to characterize the state of energy exchange and metabolic changes in the brain (GM) of rats with experimental allergic encephalomyelitis (EAE) under the influence of cryoextracts of placenta (CEP) and spleen (CES), as well as the conditioned medium of mesenchymal stem cells (CM-MSK).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

MATERIALS AND METHODS

Експериментальний алергічний енцефаломієліт (АЕМ) у щурів індукціювали шляхом одноразового підшкірного введення енцефалітогенної емульсії в основу хвоста за дозою 1,0 мл/кг маси тіла. Емульсія містила повний ад'ювант Фрейнда (Thermo Fisher Scientific, США) та гомогенат алогенного головного мозку (ГМ) в рівних пропорціях. Підготовка енцефалітогенної емульсії для щурів проводилась згідно з методикою [11–13].

Як референс-препарат використано глюкокортикоїд метилпреднізолон (МП, «Депо-Медрол», Пфайзер Менюфекчуринг, Бельгія) [14, 15].

Експериментальні дослідження проведені на 42 щурах-самцях масою 200–220 г, рандомізованих на 6 груп:

I (негативний контроль) – інтактні щури (n = 7), яким на 12-й, 14-й, 16-й, 18-й та 20-й дні експерименту

The comprehensive research program was reviewed and approved by the Ethics and Bioethics Committee of the Medical Faculty of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (protocol excerpt No. 4/3 dated December 11, 2024). The content of adeny nucleotides-adenosine monophosphate (AMP), adenosine diphosphate (ADP), and adenosine triphosphate (ATP) – was determined in a deproteinized GM homogenate using the chromatographic method [11–13].

The glucocorticoid methylprednisolone (MP, «Depo-Medrol», Pfizer Manufacturing, Belgium) was used as the reference drug [14, 15].

Experimental studies were conducted on 42 male rats weighing 200–220 g, randomized into 6 groups:

Group I (negative control) – intact rats (n = 7), intramuscularly injected with 0.9% NaCl solution at

в/м вводили 0,9% розчин NaCl в дозі 1,0 мл/кг маси тіла щура;

II – щури зі змодельованим АЕМ ($n = 7$) без лікування (контрольна група), яким на 12-й, 14-й, 16-й, 18-й та 20-й дні експерименту в/м вводили 0,9% розчин NaCl в дозі 1,0 мл/кг;

III – щури зі змодельованим АЕМ ($n = 7$), яким на 12-й, 14-й, 16-й, 18-й та 20-й дні експерименту в/м вводили референс-препарат МП в дозі 3,4 мг/кг [14];

IV – щури зі змодельованим АЕМ ($n = 7$), яким на 12-й, 14-й, 16-й, 18-й та 20-й дні експерименту в/м вводили КЕП у дозі 2,5 мл/кг [16];

V – щури зі змодельованим АЕМ ($n = 7$), яким на 12-й, 14-й, 16-й, 18-й та 20-й дні експерименту в/м вводили КЕС у дозі 5,0 мл/кг [17];

VI – щури зі змодельованим АЕМ ($n = 7$), яким на 12-й, 14-й, 16-й, 18-й та 20-й дні експерименту в/м вводили КС-МСК у дозі 0,6 мл/кг [18, 19].

На 22-й день тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним CHCl_3 «рауш-наркозом» та екстирпували ГМ для подальших досліджень.

Комплексну програму досліджень розглянуто та погоджено Комісією з питань етики та біоетики медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України (витяг з протоколу № 4/3 від 11 грудня 2024 р.).

Вміст аденілових нуклеотидів – аденозинмонофосфорної кислоти (АМФ), аденозиндифосфорної кислоти (АДФ), аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) досліджували у депротейнізованому гомогенаті ГМ хроматографічним методом.

Аденілатний енергетичний заряд (АЕЗ) за D. Atkinson & G. Walton розраховували за формулою:

$$\text{АЕЗ} = (\text{АТФ} + 0,5 \times \text{АДФ}) / (\text{АТФ} + \text{АДФ} + \text{АМФ}) \quad [20, 21].$$

Вміст лактату визначали спектрофотометрично за методом Hohorst H.-J. [22, 23]. У присутності лактатдегідрогенази лактат переходить у піруват, причому зв'язування, утворене в ході реакції пірувату гідразин-гліциновим буфером, сприяє повному окисненню лактату. Лактат + NAD^+ + гідразин \rightarrow гідразин-піруват + $\text{NADH} + \text{H}_2\text{O}$. Утворення відновленої форми НАД (НАД-Н) еквівалентно кількості окисненого лактату, яку реєстрували при довжині хвилі $\lambda = 340 \text{ nm}$ [22].

Вміст малату визначали спектрофотометрично за методом Hohorst H.-J. [24]. У присутності малатдегідрогенази малат перетворюється на щавлево-оцтову кислоту, зав'язування якої гідразин-гліциновим буфером забезпечує повне окиснення малату: малат + NAD^+ + гідразин \rightarrow оксалоацетат-гідразин + $\text{NADH} + \text{H}_2\text{O}$. Утворення відновленої форми НАДН еквівалентно кількості окисненого малату, збільшення якого реєстрували при довжині хвилі $\lambda = 340 \text{ nm}$ [22].

Вміст пірувату визначали спектрофотометрично за методом Czok R. & Lamprecht W. [25, 26]. У присутності лактатдегідрогенази (ЛДГ) піруват відновлюється до лактату: піруват + $\text{NADH} + \text{H}^+ \leftrightarrow$ лактат + NAD^+ . Кількість використаного у реакції пірувату еквівалентна кількості НАДН, зменшення якого визначали при довжині хвилі $\lambda = 340 \text{ nm}$ [22].

Статистична обробка виконана з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями Microsoft Office Excel 2010. Оцінку характеру розподілу величин в кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W -критерію Шапіро–Віллка. Однорідність дисперсій визначали

a dose of 1.0 ml/kg body weight on days 12, 14, 16, 18, and 20 of the experiment.

Group II – rats with modeled AEM ($n = 7$) without treatment (control group), intramuscularly injected with 0.9% NaCl solution at a dose of 1.0 ml/kg on days 12, 14, 16, 18, and 20.

Group III – rats with modeled AEM ($n = 7$), intravenously injected with the reference drug MP at a dose of 3.4 mg/kg on days 12, 14, 16, 18, and 20 [14].

Group IV – rats with modeled AEM ($n = 7$), intramuscularly injected with CEP at a dose of 2.5 ml/kg on days 12, 14, 16, 18, and 20 [16].

Group V – rats with modeled AEM ($n = 7$), intramuscularly injected with CES at a dose of 5.0 ml/kg on days 12, 14, 16, 18, and 20 [17].

Group VI – rats with modeled AEM ($n = 7$), intramuscularly injected with CS-MSK at a dose of 0.6 ml/kg on days 12, 14, 16, 18, and 20 [18, 19].

On the 22nd day, the animals were sacrificed via cervical dislocation under inhalation chloroform anesthesia («light narcosis»), and their brains were extracted for further studies.

The comprehensive research program was reviewed and approved by the Ethics and Bioethics Committee of the Medical Faculty of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine (protocol extract No. 4/3 dated December 11, 2024).

The content of adenine nucleotides – adenosine monophosphate (AMP), adenosine diphosphate (ADP), and adenosine triphosphate (ATP) – was studied in the deproteinized brain homogenate using a chromatographic method.

The adenylate energy charge (AEC) was calculated according to the formula by D. Atkinson & G. Walton:

$$\text{AEC} = (\text{ATP} + 0.5 \times \text{ADP}) / (\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP}) \quad [20, 21].$$

Lactate content was determined spectrophotometrically by the Hohorst H.-J. method [22, 23]. In the presence of lactate dehydrogenase (LDH), lactate is converted to pyruvate, and its reaction with hydrazine in a glycine buffer promotes complete oxidation of lactate:

Lactate + NAD^+ + hydrazine \rightarrow pyruvate-hydrazone + $\text{NADH} + \text{H}_2\text{O}$. The formation of reduced NAD (NADH) was equivalent to the amount of oxidized lactate and was measured at a wavelength of $\lambda = 340 \text{ nm}$ [22].

Malate content was determined spectrophotometrically by the Hohorst H.-J. method [24]. In the presence of malate dehydrogenase, malate is converted to oxaloacetate, which reacts with hydrazine in a glycine buffer: Malate + NAD^+ + hydrazine \rightarrow oxaloacetate-hydrazone + $\text{NADH} + \text{H}_2\text{O}$.

The formation of NADH was equivalent to the oxidized malate, measured at $\lambda = 340 \text{ nm}$ [22].

Pyruvate content was determined spectrophotometrically by the Czok R. & Lamprecht W. method [25, 26]. In the presence of LDH, pyruvate is reduced to lactate: Pyruvate + $\text{NADH} + \text{H}^+ \leftrightarrow$ lactate + NAD^+ .

The amount of pyruvate used in the reaction was equivalent to the decrease in NADH, which was measured at $\lambda = 340 \text{ nm}$ [22].

Statistical analysis was performed using Microsoft Office Excel 2010. The distribution of values in each group was assessed using the Shapiro–Wilk W -test. Homogeneity of variances was tested using Levene's test. For normally distributed independent variables, differences between groups were compared pairwise using Student's t -test. Repeated measures within the

за критерієм Левена. При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Стьюдента. Зіставлення показників однієї групи при повторюваних вимірюваннях за різних умов експерименту проводили за непараметричним T-критерієм Вілкоксона. Цифрові дані у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді «M ± m» (M ± SE), де M – середнє арифметичне значення, m (SE) – стандартна похибка середнього арифметичного або M (95% ДІ: 5% – 95%), де 95% ДІ: – 95% довірчий інтервал. При ненормальному розподілі отриманих величин дані подано у вигляді Me [LQ; UQ], де Me – медіана, [LQ; UQ] – верхня межа нижнього квантиля (lower quartile – LQ) та нижня межа верхнього квантиля (upper quartile – UQ) [27–29].

same group under different experimental conditions were analyzed using the nonparametric Wilcoxon test. Numerical data for normally distributed variables are presented as «M ± m» (M ± SE), where M is the arithmetic mean and m (SE) is the standard error of the mean, or as «M (95% CI: 5%–95%)», where 95% CI is the 95% confidence interval. For non-normally distributed variables, data are presented as Me [LQ; UQ], where Me is the median, [LQ; UQ] represents the lower quartile (LQ) and upper quartile (UQ) boundaries [27–29].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

RESULTS AND DISCUSSION

Дослідження показало, що на 22-й день експерименту у щурів з АЕМ (контрольна група) рівень лактату в тканинах ГМ становив $4,40 \pm 0,13$ (95% ДІ: 4,14–4,66) мкмоль/г тканини. Цей показник був значно вищим, порівняно з показниками в інтактних щурів, де рівень лактату складав $2,24 \pm 0,13$ (95% ДІ: 1,99–2,50) мкмоль/г тканини (табл. 1).

The study showed that by day 22 of the experiment, lactate levels in the GM of EAE rats (control group) reached $4.40 \pm 0.13 \mu\text{mol/g}$ tissue (95% CI: 4.14–4.66). This level was significantly higher than in intact rats, where lactate levels were $2.24 \pm 0.13 \mu\text{mol/g}$ tissue (95% CI: 1.99–2.50) (Table 1).

Таблиця 1. Вплив кріоекстракту плаценти (КЕП), кріоекстракту селезінки (КЕС), кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК) та метилпреднізолону (МП) на вміст лактату, пірувату та малату у тканинах ГМ щурів з алергічним енцефаломієлітом (АЕМ) на 22-й день експерименту, мкмоль/г тканини (M ± m (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], n = 42)

Table 1. The effect of placenta cryoextract (CEP), spleen cryoextract (CES), conditioned medium of mesenchymal stem cells (CM-MSK), and methylprednisolone (MP) on the levels of lactate, pyruvate, and malate in the brain tissue of rats with allergic encephalomyelitis (EAE) on the 22nd day of the experiment, $\mu\text{mol/g}$ tissue (M ± m (95% CI) or Me [LQ; UQ], n = 42)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання The studied indicator, units of measurement	Умови експерименту / Experimental Conditions					
	I (1) група Group I (1)	II (2) група Group II (2)	III (3) група Group III (3)	IV (4) група Group IV (4)	V (5) група Group V (5)	VI (6) група Group VI (6)
	Інтактні щури Intact rats	Контроль (АЕМ без лікування) Control (EAE without treatment)	АЕМ + МП EAE + MP	АЕМ + КЕП EAE + CEP	АЕМ + КЕС EAE + CES	АІГ + КС-МСК EAE + CM-MSK
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Лактат, мкмоль/г тканини Lactate, $\mu\text{mol/g}$ tissue	$2,24 \pm 0,13$ (95% ДІ: 1,99–2,50)	$4,40 \pm 0,13$ (95% ДІ: 4,14–4,66) $p_1 < 0,001$ [96,2%]	$4,24 \pm 0,14$ (95% ДІ: 3,98–4,51) $p_2 = 0,4$ [3,6%]	$3,27 \pm 0,10$ (95% ДІ: 3,08–3,46) $p_2 < 0,001$ [25,6%] $p_3 < 0,001$ [22,9%]	$3,59 \pm 0,11$ (95% ДІ: 3,38–3,79) $p_2 < 0,001$ [18,5%] $p_3 = 0,003$ [15,5%]	$3,00 \pm 0,16$ (95% ДІ: 2,69–3,31) $p_2 < 0,001$ [31,8%] $p_3 < 0,001$ [29,3%]
Піруват, мкмоль/г тканини Pyruvate, $\mu\text{mol/g}$ tissue	$0,53 \pm 0,03$ (95% ДІ: 0,47–0,58)	$0,24 \pm 0,04$ (95% ДІ: 0,16–0,33) $p_1 < 0,001$ [54,1%]	$0,26 \pm 0,04$ (95% ДІ: 0,18–0,33) $p_2 = 0,8$ [5,9%]	$0,27 \pm 0,03$ (95% ДІ: 0,22–0,33) $p_2 < 0,001$ [11,8%] $p_3 = 0,8$ [5,6%]	$0,26 \pm 0,04$ (95% ДІ: 0,18–0,33) $p_2 = 0,8$ [5,9%] $p_3 = 1,0$ [0%]	$0,31 \pm 0,03$ (95% ДІ: 0,26–0,37) $p_2 = 0,2$ [29,4%] $p_3 = 0,2$ [22,2%]
Малат, мкмоль/г тканини Malate, $\mu\text{mol/g}$ tissue	0,40 [0,35; 0,50]	0,20 [0,20; 0,20] $p_1 = 0,001$ [50,0%]	0,20 [0,15; 0,25] $p_2 = 0,5$ [0%]	0,30 [0,25; 0,30] $p_2 = 0,024$ [50,0%] $p_3 = 0,042$ [50,0%]	0,20 [0,20; 0,25] $p_2 = 0,4$ [0%] $p_3 = 0,4$ [0%]	0,30 [0,20; 0,30] $p_2 = 0,1$ [50,0%] $p_3 = 0,2$ [0%]

Примітки:

p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
 [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
 Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено порівняння.

Notes:

p_1 – level of statistical significance compared to Group 1.
 [%] – value of differences in indicators as a percentage.
 Subscripts 1, 2, 3 indicate the group number compared for differences in indicators.

Добре відомо, що лактат є кінцевим продуктом анаеробного або аеробного гліколізу, який перетворюється з пірувату за допомогою лактатдегідрогенази-5 (LDH-5). Незважаючи на те, що він у великій кількості міститься в мозку, традиційно вважався побічним продуктом або відходом гліколізу [10]. Збільшення рівня лактату у тварин з АЕМ свідчить про порушення нормальних метаболічних процесів, зокрема активацію анаеробного метаболізму внаслідок недостатності кисню та порушень в енергетичному забезпеченні клітин. Це є типовою рисою запальних процесів, що супроводжують нейрозапалення, які мають місце при АЕМ. Порушення аеробного метаболізму в тканинах мозку призводить до накопичення лактату, що є свідченням анаеробної гліколітичної активності та загального зниження енергетичної ефективності клітин.

У групі щурів, що отримували МП, рівень лактату був $4,24 \pm 0,14$ (95% ДІ: 3,98–4,51) мкмоль/г тканини, що на 3,6% менше, ніж у контрольній групі з АЕМ ($p = 0,4$). Це свідчить про те, що МП має деякий ефект у корекції метаболічних порушень, зокрема здатний зменшити рівень лактату, але цей ефект не був статистично значущим порівняно з контролем, що вказує на помірну ефективність МП у нормалізації метаболічних порушень, пов'язаних з АЕМ.

Застосування КЕП привело до значного зниження рівня лактату. Так, у щурів, які отримували КЕП, рівень лактату знизився до $3,27 \pm 0,10$ (95% ДІ: 3,08–3,46) мкмоль/г тканини, що на 25,6% було менше, ніж у щурів контрольної групи ($p < 0,001$). Це свідчить про ефективність КЕП у нормалізації метаболічних процесів в умовах АЕМ. Крім того, така суттєва зміна може бути пов'язана з потужними протизапальними та регенеративними властивостями, притаманними кріоекстракту плаценти [30]. КЕП, ймовірно, активує процеси відновлення в тканинах мозку, знижуючи активність анаеробного метаболізму і сприяючи нормалізації енергетичного обміну, що виявляється у значному зменшенні рівня лактату. Це робить КЕП перспективним терапевтичним засобом корекції нейрозапалення, оскільки він може відновлювати нормальний рівень енергії в клітинах мозку, зменшуючи накопичення лактату.

Аналогічні зміни рівня лактату відмічено і в групах, що отримували КЕС та КС-МСК (табл. 1). Так, у групі, де застосовували КЕС, рівень лактату в тканинах ГМ був $3,59 \pm 0,11$ (95% ДІ: 3,38–3,79) мкмоль/г тканини, що на 18,5% менше порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$). Це свідчить про вплив КЕС на метаболічні процеси в мозку щурів з АЕМ, зокрема на зниження рівня лактату. Однак, цей ефект був менш виражений, ніж у групі з КЕП, що може вказувати на різницю в механізмах дії між цими двома препаратами. КЕС, ймовірно, стимулюють процеси регенерації і знижують запальний процес у мозкових клітинах, але не настільки ефективно, як КЕП.

У групі щурів, що отримували КС-МСК, рівень лактату в тканинах ГМ становив $3,00 \pm 0,16$ (95% ДІ: 2,69–3,31) мкмоль/г тканини, що на 31,8% менше порівняно з контролем ($p < 0,001$). Це також вказує на ефективність КС-МСК у нормалізації метаболічних процесів. Кондиціоноване середовище, яке містить фактори росту і цитокіни, що виділяються МСК [31], ймовірно, стимулює відновлення пошкоджених тканин ГМ, що сприяє зниженню рівня лактату, а отже, і відновленню нормального енергетичного балансу в клітинах.

Lactate, a byproduct of anaerobic or aerobic glycolysis, is converted from pyruvate by LDH-5. While traditionally considered a waste product of glycolysis, lactate is abundant in the brain [10]. Increased lactate levels in EAE animals indicate disrupted metabolic processes, including activation of anaerobic metabolism due to oxygen deficiency and energy supply disturbances. This is a typical feature of inflammatory processes associated with neuroinflammation in EAE. Disruption of aerobic metabolism in brain tissues leads to lactate accumulation, signaling anaerobic glycolytic activity and reduced cellular energy efficiency.

In the group treated with MP, lactate levels were 4.24 ± 0.14 $\mu\text{mol/g}$ tissue (95% CI: 3.98–4.51), a 3.6% reduction compared to the EAE control group ($p = 0.4$). This indicates that MP has some effect on correcting metabolic disturbances, particularly reducing lactate levels, though this reduction was not statistically significant compared to the control, suggesting moderate efficacy in normalizing EAE-associated metabolic disturbances.

The use of CEP led to a significant decrease in lactate levels. In CEP-treated rats, lactate levels dropped to 3.27 ± 0.10 $\mu\text{mol/g}$ tissue (95% CI: 3.08–3.46), 25.6% lower than in the control group ($p < 0.001$). This demonstrates the effectiveness of CEP in normalizing metabolic processes under EAE conditions. Such a significant change is likely due to the potent anti-inflammatory and regenerative properties of placenta cryoextracts [30]. CEP likely activates recovery processes in brain tissues, reducing anaerobic metabolism activity and normalizing energy metabolism, evidenced by a significant lactate decrease. This positions CEP as a promising therapeutic agent for neuroinflammation correction, as it may restore normal cellular energy levels in the brain and reduce lactate accumulation.

Similar lactate reductions were observed in the CES and CM-MSK groups (see Table 1). In CES-treated rats, lactate levels were 3.59 ± 0.11 $\mu\text{mol/g}$ tissue (95% CI: 3.38–3.79), 18.5% lower than in the control group ($p < 0.001$). This demonstrates CES's effect on brain metabolic processes in EAE rats, particularly in lowering lactate levels. However, this effect was less pronounced than in the CEP group, possibly indicating differences in the mechanisms of action between the two agents. CES likely stimulates regenerative processes and reduces brain cell inflammation, though not as effectively as CEP.

In the group of rats treated with CM-MSK, lactate levels in GM tissue were 3.00 ± 0.16 (95% CI: 2.69–3.31) $\mu\text{mol/g}$ tissue, which was 31.8% lower compared to the control group ($p < 0.001$). This also indicates the effectiveness of CM-MSK in normalizing metabolic processes. The conditioned medium, containing growth factors and cytokines secreted by MSCs [31], likely stimulates the repair of damaged GM tissues, contributing to a reduction in lactate levels and, consequently, the restoration of normal energy balance in cells.

Given the importance of lactate as an indicator of anaerobic metabolism, its reduced concentration after treatment with various agents confirms their potential for correcting metabolic disturbances in EAE, particularly restoring normal energy balance in GM cells [10].

Another metabolite of anaerobic glycolysis is pyruvate. Pyruvate occupies a central metabolic node due to its position at the intersection of glycolysis and

Враховуючи важливість рівня лактату, як індикатора анаеробного метаболізму, зниження його концентрації після лікування різними препаратами підтверджує їх потенціал для корекції метаболічних порушень при АЕМ, зокрема відновлення нормального енергетичного балансу в клітинах ГМ [10].

Іншим метаболітом анаеробного гліколізу є піруват. Піруват займає центральний метаболічний вузол завдяки своєму положенню на перехресті гліколізу та циклу трикарбонової кислоти. Він, як відомо, є кінцевим продуктом гліколізу та важливим інтермедіатом у процесах енергетичного обміну, а його концентрація може відображати ступінь порушень у метаболізмі та ефективність лікування [32].

Оцінка рівня пірувату показала, що у контрольній групі щурів без лікування (АЕМ) рівень пірувату в тканинах ГМ був значно знижений порівняно з інтактними щурами та становив $0,24 \pm 0,04$ (95% ДІ: 0,16–0,33) мкмоль/г тканини, що виявилось на 54,1% менше порівняно з інтактними щурами ($p < 0,001$). Інтактні щури мали рівень пірувату $0,53 \pm 0,03$ (95% ДІ: 0,47–0,58) мкмоль/г тканини (див. табл. 1). Це свідчить про порушення нормальних метаболічних процесів у тканинах ГМ при АЕМ, зокрема, зменшення активності аеробного метаболізму. Зниження рівня пірувату може бути пов'язане з порушенням циклу Кребса і зниженням здатності клітин до аеробного окиснення глюкози, що є типовим при запальних процесах у мозку [33].

Застосування референс-препарату МП сприяло лише незначному підвищенню рівня пірувату, який становив $0,26 \pm 0,04$ (95% ДІ: 0,18–0,33) мкмоль/г тканини. Цей показник був лише на 5,9% вищий порівняно з групою контролю ($p = 0,8$), але ефект лікування був помірним, оскільки рівень пірувату залишався значно нижчим порівняно з інтактними щурами. Це вказує на те, що МП має певний позитивний ефект на метаболічні процеси в ГМ щурів з АЕМ, але не відновлює повністю нормальну аеробну метаболічну активність клітин.

Застосування КЕП сприяло більш виразному підвищенню рівня пірувату. У групі, що отримувала КЕП, рівень пірувату становив $0,27 \pm 0,03$ (95% ДІ: 0,22–0,33) мкмоль/г тканини, що було на 11,8% вище, ніж у групі щурів з АЕМ ($p < 0,001$). Однак різниця між показниками щурів, яким вводили КЕП та інтактними щурами, була не настільки значною. Цей результат вказує на те, що КЕП сприяє відновленню нормальних метаболічних процесів у тканинах ГМ щурів з АЕМ, однак рівень пірувату в цій групі залишався нижчим, ніж в інтактних щурів.

Вплив КЕС також привів до певного підвищення рівня пірувату. У групі щурів, які отримували КЕС, рівень пірувату становив $0,26 \pm 0,04$ (95% ДІ: 0,18–0,33) мкмоль/г тканини (див. табл. 1), що було на 5,9% більше, ніж у щурів контрольної групи з АЕМ ($p = 0,8$). Таким чином, ефект від застосування КЕС на метаболізм ГМ був порівняно схожим з результатами застосування МП та КЕП, що вказує на його помірну ефективність у нормалізації рівня пірувату.

У тварин, яким вводили КС-МСК, рівень пірувату був $0,31 \pm 0,03$ (95% ДІ: 0,26–0,37) мкмоль/г тканини. Це значення було на 29,4% вище, ніж у щурів контрольної групи ($p=0,2$), але показник залишався значно нижчим за рівень пірувату в інтактних щурів. Загалом, результати дослідження свідчать, що найбільш виражене підвищення рівня пірувату спостерігалось у групах щурів, які отримували КС-МСК, що свідчить

the tricarboxylic acid cycle. It is known to be the end product of glycolysis and an important intermediate in energy exchange processes. Its concentration can reflect the degree of metabolic disruption and treatment efficacy [32].

An assessment of pyruvate levels revealed that in the untreated control group (EAE), pyruvate levels in GM tissue were significantly reduced compared to intact rats, at 0.24 ± 0.04 (95% CI: 0.16–0.33) $\mu\text{mol/g}$ tissue, which was 54.1% lower than in intact rats ($p < 0.001$). Intact rats had pyruvate levels of 0.53 ± 0.03 (95% CI: 0.47–0.58) $\mu\text{mol/g}$ tissue (see Table 1). This indicates disruptions in normal metabolic processes in GM tissue in EAE, specifically reduced aerobic metabolism activity. Pyruvate reduction may be associated with tricarboxylic acid cycle impairment and a decrease in cells' ability to aerobically oxidize glucose, which is typical of inflammatory processes in the brain [33].

The use of the reference drug MP resulted in only a slight increase in pyruvate levels, which were 0.26 ± 0.04 (95% CI: 0.18–0.33) $\mu\text{mol/g}$ tissue. This was just 5.9% higher than in the control group ($p = 0.8$), but the treatment effect was moderate, as pyruvate levels remained significantly lower than in intact rats. This indicates that MP has some positive effects on metabolic processes in the GM of rats with EAE but does not fully restore normal aerobic metabolic activity.

The use of CEP led to a more pronounced increase in pyruvate levels. In the group treated with CEP, pyruvate levels were 0.27 ± 0.03 (95% CI: 0.22–0.33) $\mu\text{mol/g}$ tissue, 11.8% higher than in the EAE group ($p < 0.001$). However, the difference between pyruvate levels in the CEP-treated group and intact rats was less significant. This result indicates that CEP contributes to the recovery of normal metabolic processes in GM tissues of rats with EAE, although pyruvate levels in this group remained lower than in intact rats.

The effects of CES also led to a slight increase in pyruvate levels. In the group treated with CES, pyruvate levels were 0.26 ± 0.04 (95% CI: 0.18–0.33) $\mu\text{mol/g}$ tissue (see Table 1), which was 5.9% higher than in the control group with EAE ($p = 0.8$). Thus, the effect of CES on GM metabolism was comparable to the results of MP and CEP treatments, indicating moderate effectiveness in normalizing pyruvate levels.

In animals treated with CM-MSK, pyruvate levels were 0.31 ± 0.03 (95% CI: 0.26–0.37) $\mu\text{mol/g}$ tissue. This value was 29.4% higher than in the control group ($p = 0.2$) but still significantly lower than pyruvate levels in intact rats. Overall, the study results suggest that the most pronounced increase in pyruvate levels was observed in the CM-MSK group, indicating its significant impact on the restoration of aerobic metabolic processes.

Malate was identified as a key metabolite in the tricarboxylic acid cycle, playing a critical role in aerobic metabolism and energy exchange in cells. It is an intermediate formed through pyruvate oxidation in the citric acid cycle, and its level serves as an indicator of cycle activity and cellular energy efficiency. Malate is also important for its role in fatty acid oxidation and redox reactions regulation [32].

The study of the effects of acellular cryopreserved biological agents (CEP, CES, and CM-MSK) on malate levels in GM tissues of EAE rats showed that

про його значний вплив на відновлення аеробних метаболічних процесів.

Малат був визначений як один із ключових метаболітів циклу Кребса, що відіграє важливу роль в аеробному метаболізмі та енергетичному обміні клітин. Він є проміжним продуктом, що утворюється внаслідок окиснення пірувату через цикл лимонної кислоти, тому його рівень в організмі може бути індикатором активності цього циклу і загальної енергетичної ефективності клітин. Важливість малату полягає також у його здатності взаємодіяти з іншими молекулами метаболічних шляхів, зокрема, в процесах окиснення жирних кислот і регулюванні окиснювально-відновних реакцій [32].

Дослідження впливу безклітинних уріоконсервованих біологічних засобів (КЕП, КЕС та КС-МСК) на рівень малату в тканинах ГМ щурів з АЕМ показало, що у щурів з АЕМ без лікування рівень вказаного метаболіту в тканинах ГМ був значно знижений порівняно з інтактними щурами та становив 0,20 [0,20; 0,20] мкмоль/г тканини (див. табл. 1), що було на 50% менше порівняно з рівнем малату в інтактних щурах, де показник складав 0,40 [0,35; 0,50] мкмоль/г тканини ($p = 0,001$). Це значне зниження рівня малату може свідчити про порушення нормальних метаболічних процесів у ГМ щурів з АЕМ, що, ймовірно, пов'язано з пригніченням циклу Кребса та зниженням здатності клітин до аеробного окиснення енергетичних субстратів, таких як глюкоза та жирні кислоти. Зниження рівня малату може бути також індикатором порушення енергетичного забезпечення, характерного для АЕМ.

У групі щурів, які отримували МП, рівень малату був 0,20 [0,15; 0,25] мкмоль/г тканини. Застосування КЕП дало більш значущі результати у порівнянні з МП – рівень малату становив 0,30 [0,25; 0,30] мкмоль/г тканини, що було на 50% більше порівняно з показниками нелікованих тварин з АЕМ ($p = 0,024$). Це свідчить про виражений ефект КЕП у нормалізації енергетичного метаболізму в тканинах ГМ щурів з АЕМ. Підвищення рівня малату в цій групі може бути результатом активації аеробних процесів окиснення та покращення функціонування циклу Кребса, що підтверджує потенціал КЕП для корекції метаболічних порушень, характерних для АЕМ. Можливо, КЕП впливає на регенерацію нейронів або мітохондрій, що сприяє відновленню енергетичних процесів у мозку.

У групі щурів, які отримували КЕС, рівень малату становив 0,20 [0,20; 0,25] мкмоль/г тканини, що не відрізняється від рівня малату в контрольній групі ($p=0,4$). Цей результат свідчить, що КЕС не мав значного впливу на рівень малату в тканинах ГМ. У групі щурів, які отримували КС-МСК, рівень малату становив 0,30 [0,20; 0,30] мкмоль/г тканини, що також на 50% більше порівняно з контрольною групою ($p = 0,1$). Таким чином, найбільш виражене підвищення рівня малату спостерігалось при застосуванні КЕП та КС-МСК, що вказує на ефективність вказаних препаратів у відновленні аеробного метаболізму та нормалізації енергетичних процесів у ГМ.

Для характеристики змін у метаболічних процесах, зокрема в анаеробному та аеробному метаболізмі, в умовах запального процесу в мозку, що супроводжує АЕМ, проведено оцінку лактат-піруватного співвідношення. Співвідношення лактату до пірувату відображає баланс між процесами анаеробного метаболізму

in untreated EAE rats, malate levels in GM tissue were significantly reduced compared to intact rats, at 0.20 [0.20; 0.20] $\mu\text{mol/g}$ tissue (see Table 1), which was 50% lower than malate levels in intact rats (0.40 [0.35; 0.50] $\mu\text{mol/g}$ tissue, $p = 0.001$). This significant malate reduction may indicate disruptions in normal metabolic processes in GM tissues of EAE rats, likely due to tricarboxylic acid cycle inhibition and reduced cell ability for aerobic substrate oxidation, such as glucose and fatty acids.

In the group of rats treated with MP, malate levels were 0.20 [0.15; 0.25] $\mu\text{mol/g}$ tissue. The application of CEP yielded more significant results compared to MP – malate levels reached 0.30 [0.25; 0.30] $\mu\text{mol/g}$ tissue, 50% higher than in untreated EAE rats ($p = 0.024$). This demonstrates the pronounced effect of CEP in normalizing energy metabolism in GM tissues of EAE rats. The increase in malate levels in this group may result from the activation of aerobic oxidation processes and improved citric acid cycle function, confirming CEP's potential to correct metabolic disorders typical of EAE. CEP may influence neuron or mitochondrial regeneration, contributing to the restoration of energy processes in the brain.

In the group of rats treated with CES, malate levels were 0.20 [0.20; 0.25] $\mu\text{mol/g}$ tissue, not differing from malate levels in the control group ($p = 0.4$). This result indicates that CES did not significantly affect malate levels in GM tissues.

In the group treated with CM-MSK, malate levels were 0.30 [0.20; 0.30] $\mu\text{mol/g}$ tissue, also 50% higher than in the control group ($p = 0.1$). Thus, the most pronounced increase in malate levels was observed with CEP and CM-MSK treatments, highlighting the effectiveness of these agents in restoring aerobic metabolism and normalizing energy processes in GM tissues.

To characterize changes in metabolic processes, particularly in anaerobic and aerobic metabolism under inflammatory brain processes accompanying EAE, the lactate-pyruvate ratio was assessed. The lactate-to-pyruvate ratio reflects the balance between anaerobic metabolism (lactate as the end product) and aerobic metabolism (pyruvate as the key intermediate). Changes in this ratio can serve as indicators of energy process disturbances in brain cells arising from inflammation, hypoxia, or other pathological conditions.

It was found that in untreated EAE rats (control group), the lactate-to-pyruvate ratio significantly increased, reaching 16.3 [14.3; 32.0] $\mu\text{mol/g}$ tissue (Figure 1). This value was nearly four times higher than in intact animals, where the ratio was 4.3 [3.6; 4.4] $\mu\text{mol/g}$ tissue. Such an increase indicates significant activation of anaerobic metabolism and disruption of aerobic processes typical of inflammatory and immune diseases. Under EAE conditions, with reduced mitochondrial efficiency, cells shift to anaerobic pathways for energy production, leading to lactate accumulation. Comparisons with intact animals showed high statistical significance for this increase ($p < 0.001$, 276.9%), confirming severe metabolic disturbances in the brains of EAE rats.

In rats treated with MP, the lactate-to-pyruvate ratio decreased to 15.3 [13.2; 20.5] $\mu\text{mol/g}$ tissue. This 6.1% reduction compared to the control group was not statistically significant ($p = 0.4$), indicating a mild

(де лактат є кінцевим продуктом) та аеробного метаболізму, де основним продуктом є піруват. Зміни в цьому співвідношенні можуть бути індикатором порушення енергетичних процесів у клітинах мозку, що виникають через запалення, гіпоксію або інші патологічні процеси.

Встановлено, що у щурів з АЕМ, які не отримували лікування (контрольна група), рівень співвідношення лактату до пірувату значно підвищився і становив 16,3 [14,3; 32,0] мкмоль/г тканини (рис. 1). Це значення є майже в 4 рази більшим за показник інтактних тварин, де співвідношення лактату до пірувату становило 4,3 [3,6; 4,4] мкмоль/г тканини. Таке підвищення співвідношення свідчить про значну активацію анаеробного метаболізму та порушення аеробних процесів, що є типовим для запальних та імунних захворювань. В умовах АЕМ, коли знижується ефективність функціонування мітохондрій, клітини переходять до анаеробного шляху отримання енергії, що призводить до накопичення лактату. Порівняння з інтактними тваринами показало високу статистичну значущість цього зростання ($p < 0,001$, 276,9%), що підтверджує виразне порушення метаболічних процесів у мозку щурів з АЕМ.

treatment effect. MP's anti-inflammatory action may have partially reduced inflammation and restored some normalization of metabolic processes, but complete metabolic recovery was likely not achieved, as the ratio remained significantly elevated compared to intact rats.

Following CEP administration, the lactate-to-pyruvate ratio decreased to 11.7 [10.3; 16.5] $\mu\text{mol/g}$ tissue (Figure 1), a 28.6% reduction compared to the control group ($p = 0.06$). Comparisons with the MP group showed a 23.9% reduction ($p = 0.07$), also not statistically significant. Nevertheless, this result indicates a positive effect of CEP in partially restoring metabolic processes, albeit not entirely. Given CEP's mechanism of action, including immunostimulatory and anti-inflammatory properties, the reduced lactate-to-pyruvate ratio suggests some improvement in energy processes in brain tissues, potentially aiding in neuron function normalization.

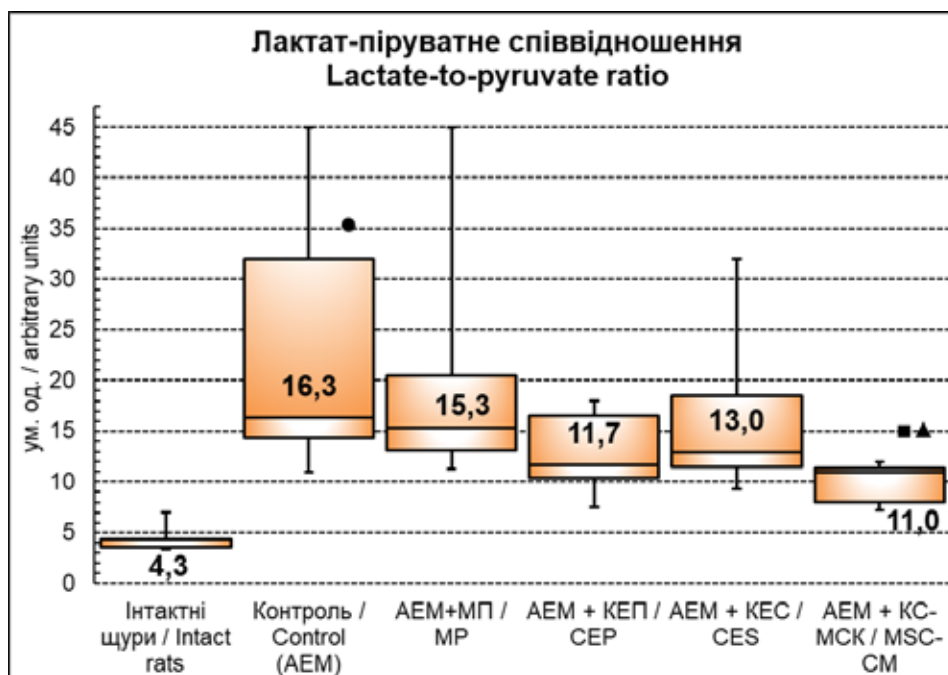


Рис. 1. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та метилпреднізолону на значення лактат-піруватного співвідношення в гомогенатах ГМ щурів з АЕМ

Fig. 1. The effect of CEP, CES, CM-MSC, and methylprednisolone on the lactate-to-pyruvate ratio in GM homogenates of rats with EAE

Примітки:

Розподіл величин ненормальний. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилу, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
 ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
 ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АЕМ (контрольна група);
 ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АЕМ, яким вводили метилпреднізолон.

Notes:

The distribution of values is non-normal. Boxes represent the 25th to 75th percentiles, with vertical lines outside the boxes indicating the minimum and maximum values. The horizontal line inside the box represents the median.
 ● – $p < 0.05$ relative to the intact rats.
 ■ – $p < 0.05$ relative to the EAE control group.
 ▲ – $p < 0.05$ relative to the EAE group treated with methylprednisolone.

У щурів, які отримували МП, рівень співвідношення лактату до пірувату знизився до 15,3 [13,2; 20,5] мкмоль/г тканини. Це зниження на 6,1% порівняно з контрольною групою не є статистично значущим

In the group of rats treated with CES, the lactate-to-pyruvate ratio was 13.0 [11.5; 18.5] $\mu\text{mol/g}$ tissue, 20.4% lower than in the control group ($p = 0.1$). Although this reduction did not reach statistical significance, it

($p = 0,4$), що свідчить про певний, але не значний ефект лікування. Протизапальна дія МП могла частково знизити запалення і відновити деяку нормалізацію метаболічних процесів, але, ймовірно, не було досягнуто повного відновлення нормального метаболізму, оскільки показник залишався значно підвищеним порівняно з інтактними щурами.

На тлі застосування КЕП рівень співвідношення лактату до пірувату знизився до $11,7 [10,3; 16,5]$ мкмоль/г тканини (див. рис. 1), що є зниженням на $28,6\%$ порівняно з контрольною групою ($p = 0,06$). Порівняння з групою МП показало зниження на $23,9\%$ ($p = 0,07$), що також не є статистично значущим, але цей результат вказує на позитивний ефект КЕП у частковому відновленні метаболічних процесів, хоча і не повною мірою. Враховуючи механізм дії КЕП, який може мати імуностимулюючі та протизапальні властивості, це зниження співвідношення лактату до пірувату вказує на певне покращення енергетичних процесів у тканинах мозку, що може бути корисним для нормалізації функціонування нейронів.

У групі щурів, яким вводили КЕС, співвідношення лактату до пірувату становило $13,0 [11,5; 18,5]$ мкмоль/г тканини, що на $20,4\%$ менше, ніж в контрольній групі ($p = 0,1$). Це зниження, хоча і не досягає статистичної значущості, також вказує на певний позитивний ефект КЕС у зменшенні метаболічних порушень, пов'язаних з підвищеною активністю анаеробного метаболізму в умовах АЕМ.

Найвиразніше зниження співвідношення лактату до пірувату було відзначено при застосуванні КС-МСК. Співвідношення лактату до пірувату становило $11,0 [8,0; 11,3]$ мкмоль/г тканини, що на $32,7\%$ нижче порівняно з показниками контрольної групи щурів ($p = 0,003$) та на $28,3\%$ менше порівняно з групою МП ($p = 0,002$). Це значне зниження співвідношення є статистично значущим, що вказує на виражений ефект КС-МСК у відновленні аеробного метаболізму та зниженні переважання анаеробної активності. КС-МСК можуть сприяти відновленню функцій нейронів і нормалізації метаболічних процесів внаслідок своєї здатності до регенерації та протизапальних властивостей. Це свідчить про високу ефективність КС-МСК як терапевтичного засобу в умовах АЕМ, що дозволяє відновити баланс між аеробними та анаеробними метаболічними шляхами.

Оцінка рівня аденилових нуклеотидів показала, що на тлі розвитку АЕМ у щурів на 22-й день експерименту вміст АТФ у тканинах ГМ був значно знижений (табл. 2). Так, у контрольній групі (АЕМ без лікування) рівень АТФ становив $1,8 \pm 0,15$ мкмоль/г тканини, що на $32,3\%$ менше порівняно з рівнем АТФ у інтактних щурах ($2,7 \pm 0,11$ мкмоль/г тканини, $p < 0,001$). Цей результат свідчить про порушення енергетичних процесів у клітинах ГМ, що є типовим для розвитку АЕМ, і може сприяти нейродегенерації та порушенню функцій ГМ.

Застосування МП призвело до зростання рівня АТФ до $2,0 \pm 0,07$ мкмоль/г тканини, що на $9,4\%$ вище, ніж у контрольній групі, але цей результат не був статистично вірогідним ($p = 0,3$). МП, який має протизапальну та мембраностабілізуючу дію, дозволяє дещо покращити енергетичний стан клітин ГМ, однак його ефект не досяг рівня, характерного для здорових щурів, що може бути зумовлено недостатньою ефективністю для відновлення всіх порушених процесів у тканинах.

still suggests some positive effect of CES in reducing metabolic disturbances associated with increased anaerobic metabolism activity under EAE conditions.

The most pronounced reduction in the lactate-to-pyruvate ratio was observed with CM-MSK administration. The ratio was $11.0 [8.0; 11.3]$ $\mu\text{mol/g}$ tissue, 32.7% lower compared to the control group ($p = 0.003$) and 28.3% lower compared to the MP group ($p = 0.002$). This significant reduction is statistically meaningful, highlighting the strong effect of CM-MSK in restoring aerobic metabolism and reducing the dominance of anaerobic activity. CM-MSK may aid in neuron function restoration and normalization of metabolic processes due to their regenerative and anti-inflammatory properties. This underscores the high efficacy of CM-MSK as a therapeutic agent in EAE, capable of rebalancing aerobic and anaerobic metabolic pathways.

The assessment of adenyly nucleotide levels revealed that by day 22 of the experiment, ATP content in the GM tissue of rats with EAE was significantly reduced (Table 2). In the control group (EAE without treatment), ATP levels were 1.8 ± 0.15 $\mu\text{mol/g}$ tissue, which was 32.3% lower compared to ATP levels in intact rats (2.7 ± 0.11 $\mu\text{mol/g}$ tissue, $p < 0.001$). This result indicates disturbances in energy processes in GM cells, which is typical for the development of EAE and may contribute to neurodegeneration and functional impairments of the GM.

The use of MP led to an increase in ATP levels to 2.0 ± 0.07 $\mu\text{mol/g}$ tissue, which was 9.4% higher than in the control group, but this result was not statistically significant ($p = 0.3$). MP, which has anti-inflammatory and membrane-stabilizing effects, slightly improved the energy state of GM cells; however, its effect did not reach the level typical for healthy rats, likely due to insufficient effectiveness in restoring all disrupted processes in the tissues.

In the EAE rats treated with CEP, ATP levels increased to 2.2 ± 0.06 $\mu\text{mol/g}$ tissue, which was 21.1% higher compared to the control group ($p = 0.033$). In the CES-treated rats, ATP levels were 2.2 ± 0.08 $\mu\text{mol/g}$ tissue, which was 22.7% higher than in the control rats ($p = 0.031$). This result indicates the effectiveness of CES, similar to CEP, in restoring energy processes in GM cells.

The highest ATP levels were recorded in the rats treated with CM-MSK (see Table 2). ATP levels were 2.8 ± 0.12 $\mu\text{mol/g}$ tissue, which was 52.3% higher compared to the untreated EAE rats ($p < 0.001$). This indicates the most pronounced effect of restoring energy processes in GM cells of rats treated with CM-MSK. MSCs have high potential for tissue regeneration and restoration of cell function, significantly improving the energy balance in the GM of EAE rats.

It was established that ADP content in intact rats was $0.20 [0.15; 0.50]$ $\mu\text{mol/g}$ tissue. In the control group (EAE without treatment), ADP levels decreased to $0.10 [0.10; 0.15]$ $\mu\text{mol/g}$ tissue. This indicates a reduction in ADP levels associated with the development of EAE, which may be linked to disturbances in energy processes in GM. However, the statistical significance of this reduction was only at the level of $p = 0.07$ (see Table 2).

Таблиця 2. Вплив кріоекстракту плаценти (КЕП), кріоекстракту селезінки (КЕС), кондиціонованого середовища мезенхімальних стовбурових клітин (КС-МСК) та метилпреднізолону (МП) на вміст аденілових нуклеотидів у тканинах ГМ щурів з алергічним енцефаломієлітом (АЕМ) на 22-й день експерименту, мкмоль/г тканини ($M \pm m$ (95% ДІ) або Me [LQ; UQ], $n = 42$)
Table 2. Effect of placenta cryoextract (CEP), spleen cryoextract (CES), conditioned medium of mesenchymal stem cells (CM-MSC), and methylprednisolone (MP) on adeny nucleotide content in GM tissue of rats with allergic encephalomyelitis (EAE) on the 22nd day of the experiment, $\mu\text{mol/g}$ tissue ($M \pm m$ (95% CI) or Me [LQ; UQ], $n = 42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання Indicator under study, units of measurement	Умови експерименту / Experimental Conditions					
	I (1) група Group I (1)	II (2) група Group II (2)	III (3) група Group III (3)	IV (4) група Group IV (4)	V (5) група Group V (5)	VI (6) група Group VI (6)
	Інтактні щури Intact rats	Контроль (АЕМ без лікування) Control (EAE without treatment)	АЕМ+ МП EAE + MP	АЕМ+ КЕП EAE + CEP	АЕМ+ КЕС EAE + CES	АЕМ+ КС-МСК EAE + CM-MSC
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
АТФ, мкмоль/г тканини ATP, $\mu\text{mol/g}$ tissue	2,7 \pm 0,11 (95% ДІ: 2,5–2,9)	1,8 \pm 0,15 (95% ДІ: 1,5–2,1) $p_1 < 0,001$ [32,3%]	2,0 \pm 0,07 (95% ДІ: 1,9–2,1) $p_2 = 0,3$ [9,4%]	2,2 \pm 0,06 (95% ДІ: 2,1–2,3) $p_2 = 0,033$ [21,1%] $p_3 = 0,032$ [10,7%]	2,2 \pm 0,08 (95% ДІ: 2,1–2,4) $p_2 = 0,031$ [22,7%] $p_3 = 0,038$ [11,3%]	2,8 \pm 0,12 (95% ДІ: 2,5–3,0) $p_2 < 0,001$ [52,3%] $p_3 < 0,001$ [39,3%]
АДФ, мкмоль/г тканини ADP, $\mu\text{mol/g}$ tissue	0,20 [0,15; 0,50]	0,10 [0,10; 0,15] $p_1 = 0,07$ [50,0%]	0,10 [0,10; 0,20] $p_2 = 0,3$ [0%]	0,20 [0,20; 0,20] $p_2 = 0,03$ [100,0%] $p_3 = 0,06$ [100,0%]	0,10 [0,10; 0,20] $p_2 = 0,3$ [0%] $p_3 = 0,5$ [0%]	0,20 [0,10; 0,20] $p_2 = 0,2$ [100,0%] $p_3 = 0,3$ [100,0%]
АМФ, мкмоль/г тканини AMP, $\mu\text{mol/g}$ tissue	0,10 [0,10; 0,20]	0,20 [0,20; 0,20] $p_1 = 0,13$ [0%]	0,20 [0,15; 0,20] $p_2 = 0,4$ [0%]	0,20 [0,10; 0,20] $p_2 = 0,1$ [0%] $p_3 = 0,2$ [0%]	0,20 [0,20; 0,20] $p_2 = 0,5$ [0%] $p_3 = 0,4$ [0%]	0,20 [0,20; 0,25] $p_2 = 0,2$ [0%] $p_3 = 0,4$ [0%]

Примітки:

p_1 – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
 [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
 Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, з показниками якої проведено порівняння.

Notes:

p_1 – level of statistical significance compared to Group 1.
 [%] – percentage difference in indicators.
 Subscripts 1, 2, and 3 indicate the group number compared for differences in indicators.

У тварин з АЕМ, яким вводили КЕП, рівень АТФ підвищився до $2,2 \pm 0,06$ мкмоль/г тканини, що на 21,1% більше порівняно з показниками щурів контрольної групи ($p = 0,033$). На тлі введення КЕС рівень АТФ становив $2,2 \pm 0,08$ мкмоль/г тканини, що на 22,7% більше порівняно з контрольними щурами ($p = 0,031$). Цей результат вказує на ефективність КЕС, подібно до КЕП, у відновленні енергетичних процесів у клітинах ГМ.

Найвищий рівень АТФ був зафіксований у щурів, яким вводили КС-МСК (див. табл. 2). – рівень АТФ становив $2,8 \pm 0,12$ мкмоль/г тканини, що на 52,3% вище порівняно з показниками нелікованих тварин з АЕМ ($p < 0,001$). Це свідчить про найбільш виражений ефект відновлення енергетичних процесів у клітинах ГМ щурів, яких лікували КС-МСК. МСК мають високий потенціал для регенерації тканин та відновлення функціонування клітин, що сприяє значному покращенню енергетичного балансу у ГМ при АЕМ.

Встановлено, що вміст АДФ у інтактних щурів становив $0,20$ [0,15; 0,50] мкмоль/г тканини. У контрольній групі (АЕМ), де щури не отримували лікування, рівень АДФ знизився до $0,10$ [0,10; 0,15] мкмоль/г тканини. Це свідчить про зниження рівня АДФ у зв'язку з розвитком АЕМ, що може бути пов'язано з порушеннями енергетичних процесів у ГМ, однак статистична значущість цього зниження була лише на рівні $p = 0,07$ (табл. 2).

У тварин, яким вводили МП (група III), рівень АДФ залишався на рівні $0,10$ [0,10; 0,20] мкмоль/г тканини,

In animals treated with MP (Group III), ADP levels remained at $0,10$ [0,10; 0,20] $\mu\text{mol/g}$ tissue, which did not statistically differ from the control group ($p = 0,3$), indicating the absence of a pronounced MP effect on this parameter under EAE conditions.

The use of CEP led to an increase in ADP levels to $0,20$ [0,20; 0,20] $\mu\text{mol/g}$ tissue. This result was 100% higher than in the control group and statistically significant ($p = 0,03$). This indicates CEP's potential to normalize energy processes in GM cells of rats with EAE.

In the group of rats treated with CES, ADP levels were $0,10$ [0,10; 0,20] $\mu\text{mol/g}$ tissue, which did not statistically differ from the control group ($p = 0,3$) or intact rats ($p = 0,5$), indicating a negligible effect of CES on this parameter.

The most significant changes in ADP content were observed in the group of rats treated with CM-MSC, where ADP levels reached $0,20$ [0,10; 0,20] $\mu\text{mol/g}$ tissue ($p = 0,2$). Overall, the results suggest some changes in ADP levels with the use of therapeutic agents; however, in most cases, ADP recovery did not achieve significant levels compared to intact rats.

The assessment of AMP levels showed that during the development of EAE, AMP levels increased to $0,20$ [0,20; 0,20] $\mu\text{mol/g}$ tissue ($p = 0,13$). In the group of rats treated with MP, AMP levels remained at $0,20$ [0,15; 0,20] $\mu\text{mol/g}$ tissue, which did not differ from the control group ($p = 0,4$).

що не відрізнялося статистично від контрольної групи ($p = 0,3$), і свідчить про відсутність виразного ефекту МП на цей показник в умовах АЕМ.

Застосування КЕП привело до збільшення рівня АДФ до $0,20 [0,20; 0,20]$ мкмоль/г тканини. Цей результат на 100% перевищує показник контрольної групи і є статистично вірогідним ($p = 0,03$). Це вказує на потенціал КЕП для нормалізації енергетичних процесів у клітинах ГМ щурів з АЕМ. У групі щурів, яким вводили КЕС, рівень АДФ становив $0,10 [0,10; 0,20]$ мкмоль/г тканини, що не відрізнялося статистично від контрольної групи ($p = 0,3$) і контрольних щурів ($p = 0,5$), що вказує на незначний ефект КЕС щодо цього показника. Найбільші зміни вмісту АДФ спостерігалися в групі щурів, яким було введено КС-МСК, де рівень АДФ становив $0,20 [0,10; 0,20]$ мкмоль/г тканини ($p = 0,2$). Загалом, результати свідчать про деякі зміни в рівні АДФ при використанні терапевтичних агентів, але в більшості випадків відновлення рівня АДФ не досягло значущих показників порівняно з інтактними щурами.

Оцінка рівня АМФ показала, що на тлі розвитку АЕМ рівень АМФ зріс до $0,20 [0,20; 0,20]$ мкмоль/г тканини ($p = 0,13$). У групі щурів, яким вводили МП, рівень АМФ залишався на рівні $0,20 [0,15; 0,20]$ мкмоль/г тканини, що не відрізнялося від показників контрольної групи ($p = 0,4$). У групі щурів, яким вводили КЕП, рівень АМФ становив $0,20 [0,10; 0,20]$ мкмоль/г тканини ($p = 0,1$), на тлі введення КЕС – рівень АМФ становив $0,20 [0,20; 0,20]$ мкмоль/г тканини ($p = 0,5$). На тлі застосування КЕС у щурів з АЕМ рівень АМФ становив $0,20 [0,20; 0,25]$ мкмоль/г тканини, що теж не відрізнялося від показників контрольної групи ($p = 0,2$). Таким чином, усі групи, що отримували лікування, продемонстрували відсутність статистично значущих змін у рівні АМФ порівняно з контрольною групою, що свідчить про незначний або відсутній вплив застосованих препаратів на цей показник у контексті АЕМ (див. табл. 2).

Важливо, щоб клітини підтримували адекватне співвідношення АТФ/АДФ для здійснення біологічних реакцій. АДФ, що утворюється в результаті цих реакцій, зазвичай перетворюється знову на АТФ шляхом гліколізу в цитозолі [34] або окисного фосфорилування [35] у мітохондріях. Якщо ці джерела вироблення АТФ скомпрометовані, то дві молекули зростаючого АДФ можуть бути перетворені в АТФ і АМФ аденілаткіназою [36].

З метою кількісної оцінки енергетичного стану клітини на основі концентрацій АТФ, АДФ і АМФ нами розраховано АЕЗ. Відомо, що АЕЗ коливається від 0 (усі АМФ) до 1 (усі АТФ). Якщо АТФ, АДФ та АМФ мають однакову концентрацію, то енергетичний заряд дорівнює 0,5. Клітини підтримують енергетичний заряд між 0,7 і 0,9, регулюючи метаболічний потік, який є швидкістю обертання реагентів і продуктів через шляхи, які генерують і споживають АТФ. Дисбаланс між темпами використання та генерації АТФ викликає зниження енергетичного заряду. Отже, нижче значення енергетичного заряду сповільнює макромолекулярний синтез і ріст. Важливо, що клітини протидіють зниженню енергетичного заряду, зменшуючи швидкість реакцій споживання АТФ і збільшуючи швидкість реакцій регенерації АТФ [36].

Проведене нами дослідження показало, що в інтактних щурів рівень АЕЗ був $0,918 \pm 0,006$ (95% ДІ: 0,906–0,930) ум. од. (рис. 2), це відповідає нормі для здорових тварин, і свідчить про оптималь-

In the group of rats treated with CEP, AMP levels were $0.20 [0.10; 0.20]$ $\mu\text{mol/g}$ tissue ($p = 0.1$). Following CES treatment, AMP levels were $0.20 [0.20; 0.20]$ $\mu\text{mol/g}$ tissue ($p = 0.5$). In the group treated with CM-MSK, AMP levels were $0.20 [0.20; 0.25]$ $\mu\text{mol/g}$ tissue, which also did not differ from the control group ($p = 0.2$).

Thus, all treatment groups demonstrated the absence of statistically significant changes in AMP levels compared to the control group, indicating minimal or no impact of the applied drugs on this parameter under EAE conditions (see Table 2).

It is crucial for cells to maintain an adequate ATP/ADP ratio to perform biological reactions. ADP formed as a result of these reactions is typically converted back to ATP through glycolysis in the cytosol [34] or oxidative phosphorylation [35] in mitochondria. If these sources of ATP production are compromised, two molecules of accumulating ADP can be converted into ATP and AMP by adenylate kinase [36].

To quantitatively assess the energy status of the cell based on ATP, ADP, and AMP concentrations, we calculated the adenylate energy charge (AEC). AEC is known to range from 0 (all AMP) to 1 (all ATP). If ATP, ADP, and AMP are at equal concentrations, the energy charge equals 0.5. Cells maintain an energy charge between 0.7 and 0.9 by regulating the metabolic flow – the rate of turnover of reactants and products through pathways that generate and consume ATP. An imbalance between ATP usage and generation rates causes a decrease in energy charge. Consequently, a lower energy charge slows macromolecular synthesis and growth. Importantly, cells counteract energy charge reduction by decreasing ATP-consuming reaction rates and increasing ATP-regeneration reaction rates [36].

Our study showed that in intact rats, AEC levels were 0.918 ± 0.006 (95% CI: 0.906–0.930) units (Figure 2). This corresponds to the norm for healthy animals and indicates the optimal energy state of GM cells, where ATP, ADP, and AMP ratios are within normal limits, and cells can effectively maintain their functionality through stable ATP regeneration.

In the control group (EAE), AEC levels decreased to 0.875 ± 0.011 (95% CI: 0.852–0.897). This value was 4.8% lower compared to intact rats ($p = 0.004$), indicating disturbances in energy processes due to EAE development. The reduction in AEC reflects ATP deficiency and impaired energy regeneration in GM cells, likely caused by intensive inflammatory processes consuming significant energy to combat pathological changes in the body.

In the group of rats treated with MP (Group III), AEC levels were 0.889 ± 0.014 (95% CI: 0.861–0.918). Compared to the control rats, this 1.6% improvement was not statistically significant ($p > 0.005$), suggesting a limited treatment effect insufficient to restore significant energy processes in the brain (see Figure 2). Although methylprednisolone has anti-inflammatory properties, it does not fully restore the normal energy balance in GM cells, as evidenced by the moderate increase in AEC levels.

In the group of rats treated with CEP, the AEC level was 0.900 ± 0.006 (95% CI: 0.888–0.912). This value was 4.4% higher than in the control group ($p < 0.04$). In the group treated with CES, the AEC level

ний енергетичний стан клітин ГМ, де співвідношення АТФ, АДФ та АМФ перебуває в нормальних межах, і клітини здатні ефективно підтримувати свою функціональність через стабільну регенерацію АТФ.

was 0.894 ± 0.012 (95% CI: 0.871–0.918), which did not statistically differ from the control group ($p > 0.005$).

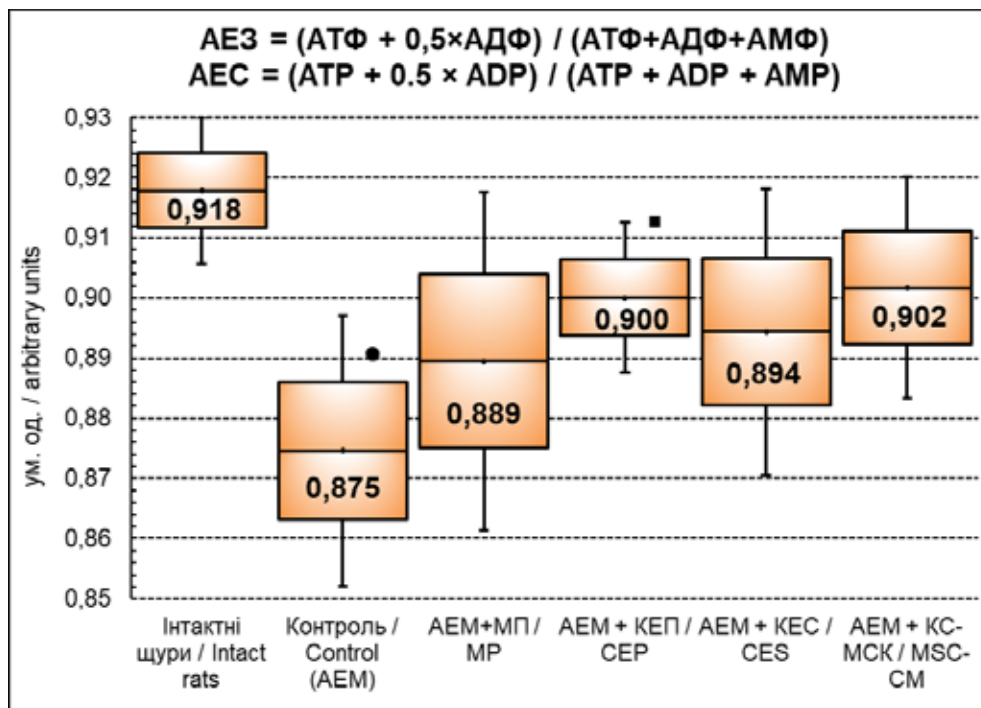


Рис. 2. Вплив КЕП, КЕС, КС-МСК та метилпреднізолону на рівень енергетичного заряду за David E. Atkinson в гомогенатах ГМ щурів з АЕМ
Fig. 2. The effect of CEP, CES, CM-MSC, and methylprednisolone on the energy charge level by David E. Atkinson in GM homogenates of rats with EAE

Примітки:

Розподіл величин ненормальний.
Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилу, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АЕМ (контрольна група);

На тлі розвитку АЕМ (контрольна група) рівень АЕЗ був знижений до $0,875 \pm 0,011$ (95% ДІ: 0,852–0,897). Це значення на 4,8% нижче порівняно з інтактними щурами ($p = 0,004$), що свідчить про порушення енергетичних процесів у результаті розвитку АЕМ. Зниження АЕЗ вказує на дефіцит АТФ і погіршення регенерації енергії в клітинах ГМ, що може бути наслідком інтенсивних запальних процесів, які витрачають велику кількість енергії для боротьби з патологічними змінами в організмі.

У групі щурів, які отримували МП (група III), рівень АЕЗ становив $0,889 \pm 0,014$ (95% ДІ: 0,861–0,918). Порівняно з контрольними щурами, це покращення на 1,6% не досягло статистичної значущості ($p > 0,005$), що може свідчити про певний ефект від лікування, але недостатній для значного відновлення енергетичних процесів у мозку (див. рис. 2). Хоча метилпреднізолон має протизапальну дію, він не сприяє повному відновленню нормального енергетичного балансу в клітинах ГМ, що підтверджується помірним зростанням значення АЕЗ.

У групі щурів, які отримували КЕП, рівень АЕЗ становив $0,900 \pm 0,006$ (95% ДІ: 0,888–0,912). Це значення на 4,4% вище, ніж у контрольній групі ($p < 0,04$).

Notes:

The distribution of values is non-normal.
Boxes represent results from the 25th to 75th percentiles, with vertical lines outside the boxes indicating the minimum and maximum values.
The horizontal line inside the box represents the median.
● – $p < 0.05$ relative to intact rats.
■ – $p < 0.05$ relative to the control group (EAE without treatment).

Thus, the effect of CES on restoring energy charge was less pronounced compared to CEP. Although CES may have immunomodulatory properties, its effect on the energy balance of GM cells was less effective compared to CEP. In rats with EAE treated with CM-MSC, the AEC level was 0.902 ± 0.009 (95% CI: 0.883–0.920).

Thus, the experimental results indicate that CEP has the highest potential to improve the energy balance of GM cells in EAE.

У групі щурів, які отримували КЕС, рівень АЕЗ склав $0,894 \pm 0,012$ (95% ДІ: 0,871–0,918). Це значення не відрізнялося статистично від контрольної групи ($p > 0,005$). Отже, ефект КЕС на відновлення енергетичного заряду був менш вираженим, порівняно з КЕП. Хоча КЕС може мати імуномодулюючі властивості, його ефект на енергетичний баланс клітин ГМ виявився менш ефективним у порівнянні з КЕП. У щурів з АЕМ, які отримували КС-МСК, рівень АЕЗ становив $0,902 \pm 0,009$ (95% ДІ: 0,883–0,920).

Таким чином, результати експерименту показують, що КЕП має найбільший потенціал для покращення енергетичного балансу клітин ГМ при АЕМ.

ВИСНОВКИ

У щурів з АЕМ рівень лактату в головному мозку на 22-й день експерименту склав $4,40 \pm 0,13$ мкмоль/г, що значно перевищує рівень у інтактних тварин ($2,24 \pm 0,13$ мкмоль/г, $p < 0,001$). Введення КЕП не призвело до змін ($p = 0,4$), тоді як КЕС знизив рівень лактату до $3,27 \pm 0,10$ мкмоль/г ($p < 0,001$), а КС-МСК – до $3,00 \pm 0,16$ мкмоль/г ($p < 0,001$). Рівень пірувату в групі з АЕМ був знижений на 54,1% ($p < 0,001$). КЕП збільшив його до $0,27 \pm 0,03$ мкмоль/г ($p < 0,001$), але залишався нижчим, ніж у інтактних тварин. КЕС і КС-МСК сприяли підвищенню пірувату, але ефект був меншим ($p = 0,8$ і $p = 0,2$ відповідно). Рівень малату в контрольній групі був знижений на 50% ($p = 0,001$). КЕП збільшив його до $0,30 \pm 0,03$ мкмоль/г ($p = 0,024$), КЕС не показав змін ($p = 0,4$), а КС-МСК також збільшив рівень ($p = 0,1$).

Співвідношення лактату до пірувату у щурів з АЕМ без лікування було значно підвищене ($16,3$ [14,3; 32,0] мкмоль/г тканини), що свідчить про активацію анаеробного метаболізму ($p < 0,001$ порівняно з інтактними тваринами). Застосування КЕП призвело до зниження цього співвідношення до $11,7$ [10,3; 16,5] мкмоль/г тканини ($p = 0,06$ порівняно з контролем), що вказує на позитивний ефект препарату, хоча зміни були не статистично значущими. У групах, що отримували КЕС ($p = 0,1$) та КС-МСК ($p < 0,001$), також спостерігалося зниження співвідношення, з найбільшим ефектом у групі, яка отримувала КС-МСК ($11,0$ [8,0; 11,3] мкмоль/г тканини).

У результаті дослідження встановлено, що на тлі АЕМ у щурів спостерігалося значне зниження рівня АТФ ($1,8 \pm 0,15$ мкмоль/г, на 32,3% менше, $p < 0,001$) та АЕЗ ($0,875 \pm 0,011$, на 4,8% менше, $p = 0,004$), що вказує на порушення енергетичних процесів у клітинах головного мозку. Лікування КЕП покращило рівень АТФ до $2,0 \pm 0,07$ мкмоль/г (на 9,4%, $p = 0,3$) та АЕЗ до $0,900 \pm 0,006$ (на 4,4%, $p < 0,04$). Найбільш виражене відновлення енергетичних показників спостерігалося при застосуванні КС-МСК, де рівень АТФ становив $2,8 \pm 0,12$ мкмоль/г (на 52,3% більше, $p < 0,001$) і АЕЗ – $0,902 \pm 0,009$. Це свідчить про високий потенціал КС-МСК для відновлення енергетичного балансу при АЕМ.

CONCLUSIONS

In rats with EAE, the lactate level in the brain on the 22nd day of the experiment was 4.40 ± 0.13 $\mu\text{mol/g}$, significantly higher than in intact animals (2.24 ± 0.13 $\mu\text{mol/g}$, $p < 0.001$). Administration of CEP did not result in significant changes ($p = 0.4$), while CES reduced lactate levels to 3.27 ± 0.10 $\mu\text{mol/g}$ ($p < 0.001$), and CM-MSC to 3.00 ± 0.16 $\mu\text{mol/g}$ ($p < 0.001$).

Pyruvate levels in the EAE group were reduced by 54.1% ($p < 0.001$). CEP increased it to 0.27 ± 0.03 $\mu\text{mol/g}$ ($p < 0.001$) but remained below the levels in intact animals. CES and CM-MSC contributed to an increase in pyruvate levels, but the effect was less pronounced ($p = 0.8$ and $p = 0.2$, respectively).

The malate level in the control group was reduced by 50% ($p = 0.001$). CEP increased it to 0.30 ± 0.03 $\mu\text{mol/g}$ ($p = 0.024$), CES showed no changes ($p = 0.4$), while CM-MSC also increased the level ($p = 0.1$).

The lactate-to-pyruvate ratio in untreated EAE rats was significantly elevated (16.3 [14.3; 32.0] $\mu\text{mol/g}$ tissue), indicating activation of anaerobic metabolism ($p < 0.001$ compared to intact animals). CEP administration reduced this ratio to 11.7 [10.3; 16.5] $\mu\text{mol/g}$ tissue ($p = 0.06$ compared to control), indicating a positive effect, though the changes were not statistically significant. In the CES ($p = 0.1$) and CM-MSC ($p < 0.001$) groups, the ratio was also reduced, with the greatest effect observed in the CM-MSC group (11.0 [8.0; 11.3] $\mu\text{mol/g}$ tissue).

The study concluded that in EAE rats, significant reductions in ATP levels (1.8 ± 0.15 $\mu\text{mol/g}$, 32.3% lower, $p < 0.001$) and AEC (0.875 ± 0.011 , 4.8% lower, $p = 0.004$) were observed, indicating impaired energy processes in brain cells. CEP treatment improved ATP levels to 2.0 ± 0.07 $\mu\text{mol/g}$ (9.4% higher, $p = 0.3$) and AEC to 0.900 ± 0.006 (4.4% higher, $p < 0.04$). The most pronounced restoration of energy parameters was observed with CM-MSC, where ATP levels reached 2.8 ± 0.12 $\mu\text{mol/g}$ (52.3% higher, $p < 0.001$) and AEC was 0.902 ± 0.009 . This demonstrates the high potential of CM-MSC for restoring energy balance in EAE.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Haki M., Al-Biati H.A., Al-Tameemi Z.S., Ali I.S., Al-Hussainy H.A. Review of multiple sclerosis: Epidemiology, etiology, pathophysiology, and treatment. *Medicine (Baltimore)*. 2024. Т. 103, № 8. e37297. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000037297>

REFERENCES

1. Haki M, Al-Biati HA, Al-Tameemi ZS, Ali IS, Al-Hussainy HA. Review of multiple sclerosis: Epidemiology, etiology, pathophysiology, and treatment. *Medicine (Baltimore)*. 2024;103(8):e37297. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000037297>

- Hauser S.L., Cree B.A.C. Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *The American Journal of Medicine*. 2020. Т. 133, № 12. P. 1380–1390. e2. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2020.05.049>
- Amin M., Hersh C.M. Updates and advances in multiple sclerosis neurotherapeutics. *Neurodegenerative Disease Management*. 2023. Т. 13, № 1. P. 47–70. DOI: <https://doi.org/10.2217/nmt-2021-0058>
- Doshi A., Chataway J. Multiple sclerosis, a treatable disease. *Clinical Medicine (London)*. 2016. Т. 16, № S6. P. s53–s59. DOI: <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.16-6-s53>
- Kuhlmann T., Moccia M., Coetzee T., Cohen J.A., Correale J., Graves J. Multiple sclerosis progression: time for a new mechanism-driven framework. *The Lancet Neurology*. 2023. Т. 22, № 1. P. 78–88. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(22\)00289-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00289-7)
- Zoupi L., Booker S.A., Eigel D., Werner C., Kind P.C., Spires-Jones T.L., Newland B., Williams A.C. Selective vulnerability of inhibitory networks in multiple sclerosis. *Acta Neuropathologica*. 2021. Т. 141, № 3. P. 415–429. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00401-020-02258-z>
- Ardanaz C.G., Ramírez M.J., Solas M. Brain Metabolic Alterations in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Т. 23, № 7. P. 3785. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23073785>
- Rangaraju V., Lauterbach M., Schuman E.M. Spatially Stable Mitochondrial Compartments Fuel Local Translation during Plasticity. *Cell*. 2019. Т. 176, № 1–2. P. 73–84.e15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.013>
- Hyder F., Rothman D.L., Bennett M.R. Cortical energy demands of signaling and non-signaling components in brain are conserved across mammalian species and activity levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013. Т. 110, № 9. P. 3549–3554. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1214912110>
- Wu A., Lee D., Xiong W.C. Lactate Metabolism, Signaling, and Function in Brain Development, Synaptic Plasticity, Angiogenesis, and Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Т. 24, № 17. P. 13398. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241713398>
- Гладких Ф.В. Адьювант Фрейнда – класика вакцинальних адьювантів та основа експериментальної імунології. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2024. Т. 3, № 3. С. 414–439. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10>
- Нефьодов О.О., Мамчур В.Й., Харченко В.Ю. Моделювання та оцінка перебігу експериментального алергічного енцефаломієліту. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. Т. 4(114). С. 205–208. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/vpbm_2014_4\(2\)_46](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vpbm_2014_4(2)_46)
- Нефьодов О.О., Мясоед Ю.П., Соломенко М.В., Великородна-Танасійчук О.В., Баклунов В.В., Адегова Л.Я., Чиркін В.І., Демиденко Ю.В. Ефективність моделювання експериментального алергічного енцефаломієліту як експериментальної моделі розсіяного склерозу. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2021. Т. 6, № 34. С. 57–65. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ujmbs_2021_6_6_8
- Нефьодов О.О., Мамчур В.Й. Зміни ноцицептивного потенціалу та активності PGH-синтетази за умов експериментального еквівалента розсіяного склерозу. *Буковинський медичний вісник*. 2015. Т. 19, № 3. С. 114–117. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2015_19_3_30
- Черненко М.Є., Вовк В.І. Розсіяний склероз: сучасні підходи до патогенетичної терапії. *Міжнародний медичний журнал*. 2015. Т. 21, № 1. С. 58–62. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mmzh_2015_21_1_14
- Шепітько В.І. Структурно-функціональні показники кріоконсервованої печінки і вплив її трансплантації на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів: дис... д. мед. н.: спец. 14.01.35. Кріомедицина. Харків, 2004. 326 с. URL: <https://nrat.ukrntei.ua/searchdoc/0504U000610/>
- Беспалова І.Г. Пептидний склад та біологічна дія екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри поросят: дис... к. біол. н.: спец. 03.00.19. Кріобіологія. Харків, 2016. 162 с. URL: <https://nrat.ukrntei.ua/searchdoc/0416U004539/>
- Golubinskaya P.A., Sarycheva M.V., Dolzhikov A.A., et al. Application of multipotent mesenchymal stem cell secretome in the treatment of adjuvant arthritis and contact-allergic dermatitis in animal models. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020. Т. 8, № 6. P. 416–425. DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425>
- Глоба В.Ю. Застосування кріоконсервованих культур клітин та нейротрофічних факторів при експериментальній інфравезикальній обструкції: дис... PhD: спец. 222. Медицина. Харків, 2021. 156 с. URL: <https://nrat.ukrntei.ua/searchdoc/0821U100913/>
- Atkinson D.E. Citrate and citrate cycle in regulation of energy metabolism. *The Metabolic Roles of Citrate. London and New York*, 1968. P. 23–40. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5759705/>
- Atkinson D.E., Walton G.M. Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation: Rat liver citrate cleavage enzyme. *Journal of Biological Chemistry*. 1967. Т. 242, № 13. P. 3239–3241. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6027798/>
- Чекман І.С., Беленічев І.Ф., Нагорна О.О., Горчакова Н.О., Лук'янчук В.Д., Бухтіярова Н.В., Горбачова С.В., Сирова Г.О. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних лікарських засобів первинної та вторинної нейропротекції: методичні рекомендації. Київ: ДП «Державний експертний центр МОЗ України», 2016. 80 с. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14537413>
- Hauser SL, Cree BAC. Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *The American Journal of Medicine*. 2020;133(12):1380–90.e2. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2020.05.049>
- Amin M, Hersh CM. Updates and advances in multiple sclerosis neurotherapeutics. *Neurodegenerative Disease Management*. 2023;13(1):47–70. DOI: <https://doi.org/10.2217/nmt-2021-0058>
- Doshi A, Chataway J. Multiple sclerosis, a treatable disease. *Clinical Medicine (London)*. 2016;16(S6):s53–9. DOI: <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.16-6-s53>
- Kuhlmann T, Moccia M, Coetzee T, Cohen JA, Correale J, Graves J. Multiple sclerosis progression: time for a new mechanism-driven framework. *The Lancet Neurology*. 2023;22(1):78–88. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(22\)00289-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00289-7)
- Zoupi L, Booker SA, Eigel D, Werner C, Kind PC, Spires-Jones TL, Newland B, Williams AC. Selective vulnerability of inhibitory networks in multiple sclerosis. *Acta Neuropathologica*. 2021;141(3):415–29. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00401-020-02258-z>
- Ardanaz CG, Ramirez MJ, Solas M. Brain Metabolic Alterations in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(7):3785. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23073785>
- Rangaraju V, Lauterbach M, Schuman EM. Spatially Stable Mitochondrial Compartments Fuel Local Translation during Plasticity. *Cell*. 2019;176(1–2):73–84.e15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.013>
- Hyder F, Rothman DL, Bennett MR. Cortical energy demands of signaling and non-signaling components in brain are conserved across mammalian species and activity levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(9):3549–54. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1214912110>
- Wu A, Lee D, Xiong WC. Lactate Metabolism, Signaling, and Function in Brain Development, Synaptic Plasticity, Angiogenesis, and Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(17):13398. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241713398>
- Hladkykh FV. Freund's Adjuvant – a classic of vaccine adjuvants and the basis of experimental immunology. *Bulletin of the V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2024;32(3):414–39. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2024-50-10>
- Nefyodov OO, Mamchur VY, Kharchenko VY. Modeling and assessment of the course of experimental allergic encephalomyelitis. *Bulletin of problems of biology and medicine*. 2014;4(114):205–8. (In Ukrainian). URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/vpbm_2014_4\(2\)_46](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vpbm_2014_4(2)_46)
- Nefyodov OO, Myasoyed YuP, Solomenko MV, Velykorodna-Tanasiyчук OV, Baklunov VV, Adegova LYa, Chirkin VI, Demydenko YuV. The effectiveness of modeling experimental allergic encephalomyelitis as an experimental model of multiple sclerosis. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports*. 2021;6(34):57–65. (In Ukrainian). URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ujmbs_2021_6_6_8
- Nefyodov OO, Mamchur VY. Changes in nociceptive potential and PGH synthetase activity under conditions of experimental equivalent of multiple sclerosis. *Bukovyna Medical Bulletin*. 2015;19(3):114–7. (In Ukrainian). URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2015_19_3_30
- Chernenko ME, Vovk VI. Multiple sclerosis: modern approaches to pathogenetic therapy. *International Medical Journal*. 2015;21(1):58–62. (In Ukrainian). URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mmzh_2015_21_1_14
- Shepitko VI. Structural and functional indicators of cryopreserved liver and the impact of its transplantation on the morphofunctional state of a number of internal organs [dissertation]. *Cryomedicine. Kharkiv, 2004:326*. (In Ukrainian). URL: <https://nrat.ukrntei.ua/searchdoc/0504U000610/>
- Bespalova IG. Peptide composition and biological effect of extracts of cryopreserved fragments of pig spleen and piglet skin [dissertation]. *Cryobiology. Kharkiv, 2016:162*. (In Ukrainian). URL: <https://nrat.ukrntei.ua/searchdoc/0416U004539/>
- Golubinskaya PA, Sarycheva MV, Dolzhikov AA, et al. Application of multipotent mesenchymal stem cell secretome in the treatment of adjuvant arthritis and contact-allergic dermatitis in animal models. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):416–25. DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2020-8-6-416-425>
- Globo VYu. The use of cryopreserved cell cultures and neurotrophic factors in experimental infravesical obstruction [dissertation]. *Medicine. Kharkiv, 2021:156*. (In Ukrainian). URL: <https://nrat.ukrntei.ua/searchdoc/0821U100913/>
- Atkinson DE. Citrate and citrate cycle in regulation of energy metabolism. *The Metabolic Roles of Citrate. London and New York*, 1968:23–40. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5759705/>
- Atkinson DE, Walton GM. Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation: Rat liver citrate cleavage enzyme. *Journal of Biological Chemistry*. 1967;242(13):3239–41. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6027798/>
- Chekman IS, Belenichev IF, Nagorna OO, Gorchakova NO, Lukyanchuk VD, Bukhtiyarova NV, Gorbachova SV, Syrova GO. Preclinical study of the specific activity of potential drugs for primary and secondary neuroprotection: methodological recommendations. *Kyiv: State Enterprise «State Expert Center of the Ministry of Health of Ukraine»*, 2016:80. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14537413>

23. Hohorst H.-J. L-(+)-Lactate: determination with lactic dehydrogenase and DPN. *Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press*, 1965. P. 266–277. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50058-X>
24. Hohorst H.-J. L-(-)-Malate: determination with malic dehydrogenase and DPN. *Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press*, 1965. P. 328–334. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50070-0>
25. Bucker T., Czok R., Lamprecht W., Latzko E. *Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press*, 1965. P. 253–259. URL: <https://ouci.dntb.gov.ua/en/works/45zrWoqI/>
26. Lamprecht W., Heinz F. Pyruvate. *Methods of Enzymatic Analysis. T. VI. New York: Academic Press*, 1983. P. 570–577.
27. Zar J.H. *Biostatistical Analysis. 5-е изд. Englewood: Prentice-Hall*, 2014. 960 p.
28. Tripathy J.P. Secondary data analysis: ethical issues and challenges. *Iranian Journal of Public Health*. 2013. Т. 42, № 12. P. 1478–1479. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26060652/>
29. Yan F., Robert M., Li Y. Statistical methods and common problems in medical or biomedical science research. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*. 2017. Т. 9, № 5. P. 157–163. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29209453/>
30. Гладких Ф.В. Нестероїдні протизапальні засоби: терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації. *Монографія*. Вінниця: ТВОРИ, 2022. 216 с. DOI: <https://doi.org/10.46879/2022.1>
31. Гладких Ф.В. Мезенхімальні стовбурові клітини: екзосоми та кондиціоновані середовища як інноваційні стратегії у лікуванні хворих на аутоімунні захворювання. *Клінічна та профілактична медицина України*. 2023. Т. 6, № 28. С. 121–130. DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2023.15>
32. Prochownik E.V., Wang H. The Metabolic Fates of Pyruvate in Normal and Neoplastic Cells. *Cells*. 2021. Т. 10, № 4. 762 p. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10040762>
33. Гладких Ф.В. Роль аутоімунних процесів при демієлінізуючих захворюваннях нервової системи: фокус на розсіяний склероз. *Міжнародний неврологічний журнал*. 2023. Т. 19, № 7. С. 223–232. DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0713.19.7.2023.1026>
34. Chandel N.S. Glycolysis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2021. Т. 13, № 5. a040535 p. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040535>
35. Chandel N.S. Mitochondria. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2021. Т. 13, № 3. a040543 p. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040543>
36. Chandel N.S. Basics of Metabolic Reactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2021. Т. 13, № 8. a040527 p. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040527>
23. Hohorst H.-J. L-(+)-Lactate: determination with lactic dehydrogenase and DPN. *Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press*, 1965:266–77. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50058-X>
24. Hohorst H.-J. L-(-)-Malate: determination with malic dehydrogenase and DPN. *Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press*, 1965:328–34. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50070-0>
25. Bucker T., Czok R., Lamprecht W., Latzko E. *Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press*, 1965:253–9. URL: <https://ouci.dntb.gov.ua/en/works/45zrWoqI/>
26. Lamprecht W., Heinz F. Pyruvate. *Methods of Enzymatic Analysis. T. VI. New York: Academic Press*, 1983:570–7.
27. Zar J.H. *Biostatistical Analysis. 5-е изд. Englewood: Prentice-Hall*, 2014:960.
28. Tripathy J.P. Secondary data analysis: ethical issues and challenges. *Iranian Journal of Public Health*. 2013;42(12):1478–9. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26060652/>
29. Yan F., Robert M., Li Y. Statistical methods and common problems in medical or biomedical science research. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*. 2017;9(5):157–63. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29209453/>
30. Hladkykh F.V. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: therapeutic and undesirable effects, ways of their optimization. *Monograph*. Vinnytsia: WORKS, 2022:216. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.46879/2022.1>
31. Hladkykh F.V. Mesenchymal stem cells: exosomes and conditioned media as innovative strategies in the treatment of patients with autoimmune diseases. *Clinical and Preventive Medicine of Ukraine*. 2023;6(28):121–30. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2023.15>
32. Prochownik EV, Wang H. The Metabolic Fates of Pyruvate in Normal and Neoplastic Cells. *Cells*. 2021;10(4):762. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10040762>
33. Hladkykh F.V. The role of autoimmune processes in demyelinating diseases of the nervous system: focus on multiple sclerosis. *International Journal of Neurology*. 2023;19(7):223–32. (In Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0713.19.7.2023.1026>
34. Chandel NS. Glycolysis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2021;13(5):a040535. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040535>
35. Chandel NS. Mitochondria. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2021;13(3):a040543. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040543>
36. Chandel NS. Basics of Metabolic Reactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2021;13(8):a040527. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040527>

Перспективи подальших досліджень

Prospects for further research

Доцільним є дослідження довгострокових ефектів терапії на основі КЕП, КЕС та КС-МСК, зокрема щодо відновлення метаболічних процесів у нейронах, а також детального вивчення механізмів їхнього впливу на нейропротекцію та стимулювання відновлення нервових клітин. Важливим є вивчення ефективності комбінованої терапії, зокрема з метилпреднізолонем, для підвищення ефективності лікування аутоімунних захворювань центральної нервової системи.

It is advisable to investigate the long-term effects of therapies based on CEP, CES, and MSC-CM, particularly regarding the restoration of metabolic processes in neurons, as well as to thoroughly study the mechanisms of their impact on neuroprotection and the stimulation of neuronal cell regeneration. An important aspect is the study of the effectiveness of combined therapy, particularly with methylprednisolone, to enhance the effectiveness of treatment for autoimmune diseases of the central nervous system.

Конфлікт інтересів

Conflict of interest

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чії продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

The authors of the manuscript consciously confirm the absence of any actual or potential conflict of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers, other organizations whose products, services, or financial support may be related to the subject matter of the provided materials or that sponsored the conducted research.

Інформація про фінансування

Funding information

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України «Вивчення ролі імунних, аутоімунних та метаболічних розладів у патогенезі та наслідках інфекційного процесу, що викликані бактеріями, вірусами, вірусно-бактеріальними асоціаціями при гострому, затяжному та хронічному перебігу хвороби та удосконалення тактики лікування», номер державної реєстрації

This article is a part of the planned research work of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology of V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, titled «Study of the role of immune, autoimmune, and metabolic disorders in the pathogenesis and consequences of infectious processes caused by bacteria, viruses, and virus-bacterial associations in acute, prolonged, and chronic disease courses, and improving treatment tactics», state registration number 0123U105022,

0123U105022, термін виконання: 2023–2028 рр., керівник – завідувачка кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, кандидат медичних наук, доцент О.В. Волобуєва.

execution period: 2023–2028, head – head of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor O.V. Volobuyeva.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Гладких Федір Володимирович – кандидат медичних наук (доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина»), докторант кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; старший науковий співробітник групи променевої патології і паліативної медицини Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»; вул. Григорія Сковороди, буд. 82, м. Харків, Україна, 61024;

e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

моб.: +38 (099) 782-78-72

Внесок автора: *ідея роботи, розробка дизайну, проведення експериментальних досліджень, статистичне опрацювання отриманих даних, написання тексту статті.*

Лядова Тетяна Іванівна – доктор медичних наук, професор, професор кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології, декан медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: t.lyadova@karazin.ua

моб.: +38 (050) 692-56-41

Внесок автора: *участь у зборі даних та інтерпретації отриманих результатів, участь у написанні статті, редагування рукопису.*

Матвієнко Марія Сергіївна – доктор філософії в галузі охорони здоров'я за спеціальністю «Медицина» (кандидат медичних наук), доцент, завідувачка кафедри загальної хірургії, анестезіології та паліативної медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України; майдан Свободи, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua

моб.: +38 (057) 705-12-36

Внесок автора: *підбір літературних джерел, участь у обговоренні отриманих результатів.*

Hladkykh Fedir Volodymyrovych – Doctor of Philosophy (PhD) in Health Care in specialty «Medicine», Doctoral student (Doctor of Sciences) of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; Senior Research fellow Department of Radiation Pathology and Palliative Medicine State Organization «Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 82 Hryhoriia Skovorody Str., Kharkiv, 61024, Ukraine;

e-mail: fedir.hladkykh@gmail.com

tel.: +38 (099) 782-78-72

Author's contribution: *idea of the work, design development, conducting experimental studies, statistical processing of the obtained data, writing the article.*

Liadova Tetyana Ivanivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the of the Department of Infectious Diseases and Clinical Immunology, Dean of the School of Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: t.lyadova@karazin.ua

tel.: +38 (050) 692-56-41

Author's contribution: *participation in data collection and interpretation of the obtained results, participation in writing the article text, manuscript editing.*

Matvieienko Mariia Serhiivna – Doctor of Philosophy in Health Care in specialty «Medicine» (Candidate of Medical Sciences), Associate Professor, Head of the Department of General Surgery, Anesthesiology and Palliative Medicine V.N. Karazin Kharkiv National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine; 4 Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: mariia.matvieienko@karazin.ua

tel.: +38 (057) 705-12-36

Author's contribution: *selection of literary sources, participation in the discussion of the obtained results.*

Рукопис надійшов
Manuscript was received
03.11.2024

Отримано після рецензування
Received after review
05.12.2024

Прийнято до друку
Accepted for printing
16.12.2024

Опубліковано
Published
30.12.2024